

Erardo Ernesto Meriño Ibarra

Inflamación y patología
autoinmune y su asociación con la
hipercolesterolemia de origen
desconocido y la arteriosclerosis

Departamento
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

Director/es
Civeira Murillo, Fernando
Cenarro Laguna, Ana

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

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

INFLAMACIÓN Y PATOLOGÍA AUTOINMUNE Y SU ASOCIACIÓN CON LA HIPERCOLESTEROLEMIA DE ORIGEN DESCONOCIDO Y LA ARTERIOSCLEROSIS

Autor

Erardo Ernesto Meriño Ibarra

Director/es

Civeira Murillo, Fernando
Cenarro Laguna, Ana

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Medicina, Psiquiatría y Dermatología

2016

TESIS DOCTORAL

INFLAMACIÓN Y PATOLOGÍA AUTOINMUNE Y SU ASOCIACIÓN CON LA HIPERCOLESTEROLEMIA DE ORIGEN DESCONOCIDO Y LA ARTERIOSCLEROSIS

Instituciones

Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología de la Universidad de Zaragoza

Hospital Universitario Miguel Servet

Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa

Autor

Erardo Ernesto Meriño Ibarra

Directores

Fernando Civeira Murillo

Ana Cenarro Laguna

D. FERNANDO CIVEIRA MURILLO, Doctor en Medicina, Catedrático del Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología de la Universidad de Zaragoza

DÑA. ANA CENARRO LAGUNA, Doctora en Ciencias, Investigadora Senior del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud

Codirectores de esta Tesis Doctoral,

CERTIFICAN:

Que la memoria de Tesis Doctoral titulada: **“INFLAMACIÓN Y PATOLOGÍA AUTOINMUNE Y SU ASOCIACIÓN CON LA HIPERCOLESTEROLEMIA DE ORIGEN DESCONOCIDO Y LA ARTERIOSCLEROSIS”**, presentada por D. Erardo Ernesto Meriño Ibarra, Licenciado en Medicina por la Universidad de La Habana con título homologado en España, Especialista en Medicina Interna por la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana y Especialista en Reumatología por la Universidad de Zaragoza ha sido realizada en la Unidad Clínica y de Investigación de Lípidos y Arteriosclerosis del Hospital Miguel Servet bajo su dirección, de acuerdo a los objetivos presentados en Proyecto de Tesis aprobado por el Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología, reúne los requisitos necesarios para ser presentada por su autor para optar al grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza y autorizan su presentación.

Zaragoza, 10 de noviembre de 2015

Dr. Fernando Civeira Murillo

Dra. Ana Cenarro Laguna

Zaragoza, España
2015

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos

Esta Tesis Doctoral es un punto de inflexión en mi carrera profesional, desde que decidí hacerme médico hasta el día de hoy. Por eso quiero agradecer a las personas que han influido en toda esta formación y por orden de aparición: mi madre, Ana Cecilia Ibarra Bulté, mi padre, Erardo Jorge Meriño Montel, mi esposa Aymara Pérez Mac-Beath y mi hija Daniela Meriño Pérez, estas dos últimas han tenido la paciencia y la tolerancia de tener un marido y padre que pasa mucho rato frente al ordenador y les quita tiempo que puede dedicar a ellas.

Mis profesores de la carrera de medicina, especialmente Dr. Mario Achón Poljamus, quizás ni me recuerde, pero yo sí que le recuerdo. A mi profesor durante la Especialidad de Medicina Interna, Dr. Alfredo Nassif Hadad.

En el año 2002 me trasladé a España a realizar una estancia acerca de las Dislipemias primarias y la enfermedad cardiovascular en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de Zaragoza y en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, allí trabajé bajo la dirección del Dr. Miguel Pocoví Mieras, Dr. Fernando Civeira Murillo (Director de la tesis) y la Dra. Ana Cénarro Laguna (Codirectora de tesis), con quienes comparto amistad después de más de 10 años y sin ellos no hubiera podido desarrollar esta Tesis Doctoral, además de otras muchas cosas personales.

Posteriormente, ya en el año 2006, comencé la especialidad de Reumatología en Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, quiero agradecer a todos mis compañeros y en especial a la Dra. Concepción Delgado Beltrán.

Índice de contenido

Abreviaturas.....	5
Introducción.....	9
Inmunidad.....	9
Inmunidad innata.....	10
Inmunidad adaptativa.....	11
Tejidos del sistema inmunitario.....	18
Autoinmunidad.....	20
Autoinmunidad. Generalidades.....	20
El lupus y la artritis reumatoide como paradigmas de la autoinmunidad.....	26
Patología biliar autoinmune.....	37
Autoanticuerpos en la patología biliar autoinmune.....	41
Dislipemia en la patología biliar autoinmune.....	43
Metabolismo del colesterol enfocado a la producción de ácidos biliares.....	45
Hipercolesterolemias primarias.....	50
Arteriosclerosis y ecografía carotídea.....	61
Hipótesis de trabajo.....	70
Objetivos.....	73
Materiales y método.....	75
Selección de la muestra.....	75
Estudios analíticos.....	76
Determinación de mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la	

ÍNDICE

apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E.....	77
Determinación de los autoanticuerpos (autoAc) y el significado de su titulación.....	77
Medición del grosor íntima-media.....	85
Métodos estadísticos.....	87
Financiación.....	88
Consentimiento informado.....	88
Resultados.....	90
Discusión.....	106
HDL, inflamación y enfermedades autoinmunes.....	107
Inflamación subclínica y arteriosclerosis.....	117
Conclusiones.....	123
Referencias bibliográficas.....	126
Anexos.....	145

Abreviaturas

- ABC: del inglés, *ATP binding cassette*
- ACBDMd: Medición media en bulbo carotídeo derecho
- ACBDMx: Medición máxima en bulbo carotídeo derecho
- ACBIMd: Medición media en bulbo carotídeo izquierdo
- ACBIMx: Medición máxima en bulbo carotídeo izquierdo
- ACCDMd: Medición media en carótida común derecha
- ACCDMx: Medición máxima en carótida común derecha
- ACCIMd: Medición media en carótida común izquierda
- ACCIMx: Medición máxima en carótida común izquierda
- ACIDMd: Medición media en carótida interna derecha
- ACIDMx: Medición máxima en carótida interna derecha
- ACIIMd: Medición media en carótida interna izquierda
- ACIIMx: Medición máxima en carótida interna izquierda
- ALT: Alaninoaminotransferasa
- AMA: Anticuerpos antimitocondriales
- ANA: anticuerpo(s) antinuclear(es)
- Anti-PCC: Anticuerpos antiproteínas citrulinadas
- Apo: Apolipoproteína
- ASMA: Anticuerpos antimúsculo liso
- AST: Aspartatoaminotransferasa
- AutoAc: Autoanticuerpos
- BAFF (Blys): del inglés, *B cell activating factor belonging to the TNF family*
- CBP: Cirrosis biliar primaria
- CD: del inglés, *clusters* de diferenciación
- CEP: Colangitis esclerosante primaria
- CESD: Enfermedad por depósitos de ésteres de colesterol
- CETP: Proteína transportadora de ésteres de colesterol
- cHDL: Colesterol en HDL
- cLDL: Colesterol en LDL
- CREST: Acrónimo de Calcinosi, Raynaud, Esófago, Sclerodactilia, Talangiectasias
- CTLA4: del inglés, *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*
- DF: Disbetalipoproteinemia familiar
- DFB: Defecto familiar de apoB

ABREVIATURAS

DNA: ácido desoxirribonucleico
FASL: Ligando de la proteína FAS
FXR: Receptor farnesil X
GIM: Grosor íntima-media
GOT: Transaminasa glutámico-oxalacética
Gp39: del inglés, *cartilage antigen glycoprotein-39*
GPT: Transaminasa glutámico pirúvica
HAP: hipercolesterolemia autosómica dominante
HAR: Hipercolesterolemia autosómica recesiva
HDL: Lipoproteínas de alta densidad
HF: Hipercolesterolemia familiar
HF3: Hipercolesterolemia familiar tipo 3
HFC: Hiperlipemia familiar combinada
HLA: Complejo de histocompatibilidad
IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia
IFN: Interferón
Ig: inmunoglobulinas
IL: interleuquinas
IRF5: Factor 5 regulador del interferón
LCAT: Lecitina Colesterol Acil Transferasa
LDL: lipoproteínas de baja densidad
LDLR: Receptor de LDL
LDLRAP1: Proteína 1 adaptadora de LDL
LES: Lupus eritematoso sistémico
Lp(a): Lipoproteína (a)
LXR: Receptor hepático X
MDL: del inglés, *multidrug resistance*
MediaBMx: Media de las mediciones máximas en bulbo carotídeo
MediaMd: Media de todas las mediciones medias, excepto la medición en carótida interna
MediaMdInt: Media de todas las mediciones medias, incluida la carótida interna
MediaMx: Media de todas las mediciones máximas, excepto la medición en carótida interna
MediaMxInt: Media de todas las mediciones máximas, incluida la carótida interna
MPO: Mieloperoxidasa

ABREVIATURAS

NK: del inglés *natural killer*

NOD, NLR: del inglés, *NOD-like receptor*

NPC1: Niemann-Pick C1 like 1

pANCA: Anticuerpo contra citoplasma de neutrófilos tipo perinuclear

PCR: Proteína C reactiva

PLTP: Proteína transportadora de fosfolípidos

PSCK9: proproteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9

PTPN: Proteína-tirosina fosfatasa, Nonreceptor-Type

RNA: ácido ribonucleico

SAA: Amiloide sérico 1

TGF: Factor de crecimiento tumoral

TGF: Factor de necrosis tumoral

Th: del inglés, *T helpers*

TNF: Factor de necrosis tumoral

TNF: Factor de necrosis tumoral

Toll, TLR: Receptores *toll*

TSH: Hormona estimulante del tiroides

VB: Vías biliares

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

Introducción

Inmunidad

La inmunidad es la resistencia a la enfermedad, concretamente a las enfermedades infecciosas y el conjunto de tejidos, células y moléculas que intervienen en ella se llama sistema inmunitario (1).

Las funciones del sistema inmunitario están dirigidas a:

- La defensa ante las infecciones
- La defensa frente a tumores
- El reconocimiento de las estructuras y células propias (1)

Las alteraciones en cada una de estas funciones genera grupos de enfermedades o predisposiciones a ella como el aumento la susceptibilidad a ciertas infecciones, aparición de enfermedades autoinflamatorias, favorece el desarrollo de tumores, rechazo a injertos y enfermedades autoinmunitarias.

Componentes del Sistema inmune (1)

No celulares (inmunidad innata)

- Barreras epiteliales
- Enzimas en epitelios y fagocitos (lisozimas)
- Sistema del complemento
- Citoquinas de la inmunidad innata: factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina 1, 6, 10, 12, 15, 18, quimiocinas, interferon γ (IFN- γ), interferón de tipo 1 (IFN- α , IFN- β), factor de crecimiento tumoral β (TGF- β)
- Citoquinas

No celulares (inmunidad adaptativa)

INTRODUCCIÓN

- Anticuerpos

- Citoquinas

Celulares (inmunidad innata)

- Fagocitos: neutrófilos y monocitos/macrófagos
- Células dendríticas
- Mastocitos
- Linfocitos citolíticos naturales (células *NK*)
- Linfocitos que expresan receptores antigénicos reordenados de forma somática:
linfocitos B-1, linfocitos T γ δ , linfocitos B de la zona marginal

Celulares (inmunidad adaptativa)

- Linfocitos T y B

Inmunidad innata

La inmunidad natural, nativa o innata, media la protección inicial frente a las infecciones, siempre está presente y constituye la primera barrera de defensa del organismo, sus componentes se heredan de padres a hijos (2). El sistema inmunitario innato suele responder de la misma forma frente a las agresiones: la inflamación y la defensa antivírica. La inflamación consiste en la acumulación y activación de leucocitos y proteínas plasmáticas en los lugares de infección o lesión tisular, está mediada por neutrófilos, que son las primeras células en llegar al sitio de la infección o inflamación, y por los monocitos/macrófagos, que tienen una importante función en la digestión de microbios y en la presentación de antígenos a los linfocitos de la inmunidad adaptativa (2). La segunda reacción está mediada por los linfocitos *NK* que destruyen a las células infectadas por virus y por interferones que bloquean la replicación vírica dentro de las células del huésped (1). La inmunidad natural no tiene memoria, reconocen y responden

INTRODUCCIÓN

a un número limitado de moléculas microbianas y moléculas que liberan las células dañadas o necrosadas conocidas como patrones moleculares asociados a la lesión. El reconocimiento de estas moléculas se efectúa por diversos receptores de membrana presentes en los fagocitos, las células dendríticas y otros tipos celulares: los receptores de reconocimiento de patrones, cuya lista se expande rápidamente(2) y se pueden dividir en dos grupos: péptidos y proteínas circulantes y receptores transmembrana e intracelulares (2), de los primeros tenemos los péptidos antimicrobianos, colectinas, lectinas, pentraxinas y de los segundos, los receptores transmembrana tipo *Toll* (TLR, del inglés *toll-like receptors*) y los receptores intracelulares tipo NOD (NLR, del inglés *NOD-like receptors*), entre otros (1). Los receptores NOD junto con una proteína adaptadora y la caspasa 1 forman el inflamasoma (1).

El sistema inmunitario innato no reacciona contra el huésped, sin embargo hay un grupo de enfermedades que se producen por activación no mediada por antígenos y son consideradas como enfermedades primarias del sistema inmunitario innato (3): las enfermedades autoinflamatorias, que se caracterizan por episodios recurrentes de inflamación inexplicada por otras causas como infección y malignidad, manifestándose con fiebre, rash, serositis, artritis, meningitis y uveitis, entre otras alteraciones (3). La entidad más frecuente y conocida de este grupo de enfermedades es la fiebre mediterránea familiar (4).

Inmunidad adaptativa

La inmunidad humoral y celular son los dos tipos de inmunidad adaptativa. La primera de ellas es la inmunidad mediada por anticuerpos producidos por los linfocitos B/células plasmáticas y la segunda o inmunidad celular, está mediada por los linfocitos T (1).

Los anticuerpos se secretan en la circulación y neutralizan antígenos extracelulares, en la

INTRODUCCIÓN

sangre y en las luces de los órganos mucosos (aparatos digestivo y respiratorio), por su parte, los linfocitos T destruyen las células del huésped que contienen los antígenos extraños, activan a los fagocitos y exponen los antígenos a la acción de los anticuerpos (1). Los linfocitos T sólo reconocen antígenos proteínicos, mientras que los linfocitos B y los anticuerpos pueden reconocer antígenos de diferente naturaleza: proteínicos, hidratos de carbono, ácidos nucleicos y lípidos (1).

La inmunidad es activa cuando el sujeto expuesto a un antígeno extraño organiza una respuesta inmune para erradicar dicho antígeno y desarrolla resistencia a la infección en el caso que dicho antígeno sea un patógeno microbiano. La inmunidad es pasiva cuando el sujeto recibe anticuerpos o células inmunitarias de otro sujeto ya inmunizado, claramente esta respuesta es más rápida que la forma activa pero no confiere resistencia duradera a, por ejemplo, una infección. La única inmunidad pasiva natural es la recibida de su madre por los recién nacidos (1).

La inmunidad adaptativa es específica, ya que es capaz desarrollar una respuesta particular a cada antígeno, pero también es diversa por la posibilidad de distinguir entre millones de antígenos. La base de esta diversidad y especificidad es que los linfocitos expresan receptores para los antígenos distribuidos de forma clonal, toda la población de linfocitos consta de muchos clones diferentes cada uno de los cuales expresa un receptor para el antígeno que es diferente de los receptores de los demás clones, lo cual constituye la hipótesis de la selección clonal (1).

Otra de las características de la inmunidad adaptativa es la memoria. Inicialmente, cuando se entra en contacto con un antígeno nuevo, se produce la respuesta inmunitaria primaria, mediada por linfocitos vírgenes que entran en contacto con el antígeno por primera vez. Los encuentros posteriores con el mismo antígeno desencadenan una

INTRODUCCIÓN

respuesta más rápida, de mayor magnitud y con mayor capacidad de eliminación del antígeno, respuesta inmunitaria secundaria y son el resultado de la activación de las células de memoria que han sido inducidas durante la respuesta inmunitaria primaria (1).

Cuando los linfocitos entran en contacto con los antígenos, los primeros proliferan y generan miles de células con la misma especificidad antigénica, lo que se denomina expansión clonal y es otra de las características de la inmunidad adaptativa (1).

Los linfocitos son las únicas células que producen receptores antigénicos específicos y son las células clave de la inmunidad adaptativa. De ellos los linfocitos B son las únicas células capaces de producir anticuerpos y los linfocitos T son los actores centrales de la inmunidad celular, reconocen fragmentos peptídicos que están unidos a moléculas especializadas conocidas como complejo de histocompatibilidad y situadas en la superficie de las células y de las células presentadoras de antígenos (1).

La inmunidad adaptativa celular está mediada por los linfocitos T. Hay diferentes tipos de linfocitos T: los linfocitos T CD4 (cooperadores) "cooperan" con el resto de linfocitos T y los fagocitos, los linfocitos T CD8 (citotóxicos) producen sustancias citotóxicas y los linfocitos T reguladores que regulan la respuesta inmune (1). Todos los linfocitos provienen de un precursor común, los de tipo T del timo (y los de tipo B de la médula ósea) (1). Figura 1.

INTRODUCCIÓN

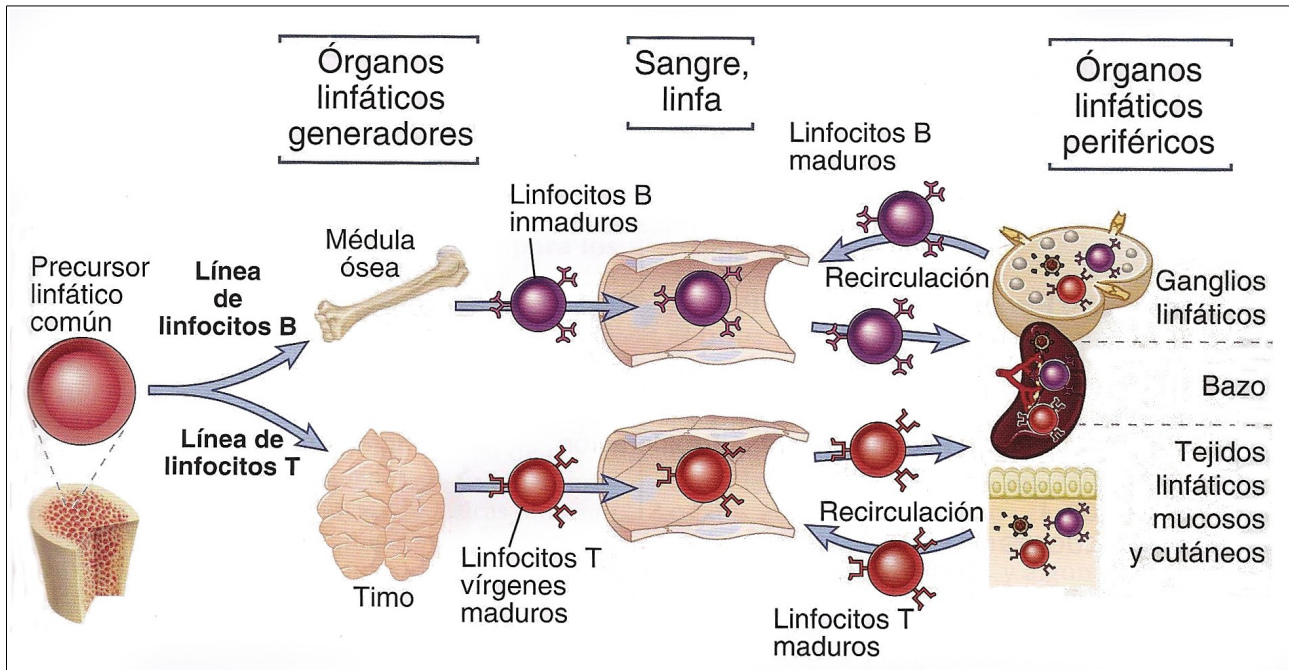


Figura 1. Maduración de los linfocitos. Los linfocitos maduros entran en los órganos linfáticos periféricos, donde responden a los antígenos extraños y recirculan en la sangre y la linfa. Tomado de (1).

Los linfocitos T CD4 cooperadores (*helpers*) producen citocinas, las cuales activan a los linfocitos B, a los fagocitos y otros tipos celulares y se subdividen en categorías funcionales según el perfil de citoquinas que producen (5). De esta manera los linfocitos T *helpers* 1(Th1) promueven la producción de anticuerpos opsonizantes, inducen citotoxicidad celular y activación macrófaga, son los linfocitos más comunes en la respuesta patológica autoinmune (5). Por su parte los linfocitos Th2 promueven la producción de inmunoglobulina (Ig) E, de IgG4 y el desarrollo de eosinófilos, los linfocitos Th17 producen interleuquina (IL) 17 que parece jugar un papel significativo en la respuesta inflamatoria a infecciones crónicas, la alergia y la autoinmunidad, finalmente, las células T reguladoras son importantes para el establecimiento y mantenimiento de la tolerancia y la regulación negativa de la respuesta inmune (5). La regulación negativa de la respuesta inmune es fundamental para mantener la homeostasia del sistema. Esta se realiza por diferentes vías, por ejemplo, en la sinapsis

INTRODUCCIÓN

inmunológica (ver más adelante), después de la activación del linfocito T, disminuye la expresión del CD28 y aumenta el CTLA4 quien tiene más afinidad por el CD80 y CD86, llevando a una pérdida de la señal co-estimuladora del CD28 (5).

Los linfocitos T CD8 disponen de mecanismos para destruir las células antigénicas, aunque tienen una supervivencia corta. La citotoxicidad de las células T CD8 se produce por dos mecanismos fundamentalmente, la exocitosis de gránulos y la expresión del Fas ligando (FasL). El primero de ellos, los gránulos citotóxicos, contienen una variedad de proteasas que penetran en las células diana generando apoptosis. Por otra parte el linfocito T es capaz de producir FasL cuya diana es el Fas localizado en la superficie de las células antigénicas lo cual lleva a la apoptosis de estas (5). La citotoxicidad a través del FasL es irrelevante para aquellas células que no expresan Fas (5). Además de los mecanismos anteriores, el linfocito T CD8 es capaz de producir interferón δ y factor de necrosis tumoral que pueden dañar directamente a las células diana, pudiendo, en general, destruir decenas de células antigénicas sin dañarse él mismo (5).

Un tema aparte son los linfocitos γ - δ los cuales son “doblemente negativos”, o sea, CD4 y CD8 negativos, su rol fisiológico no se conoce bien y proliferan en infecciones como la tuberculosis, lepra, histoplasmosis pero también en infecciones por citomegalovirus, virus Epstein Bar, virus de la inmunodeficiencia humana y enfermedad de Lyme (5).

La respuesta inmunitaria específica para cada antígeno se garantiza por el contacto de los linfocitos vírgenes con el antígeno. Los linfocitos B vírgenes se encuentran en los ganglios linfáticos, tienen una sobrevivencia de semanas o meses y al entrar en contacto con los antígenos se diferencian en células efectoras (células plasmáticas), que son capaces de producir anticuerpos y células de memoria (1).

Los anticuerpos pueden ser naturales o estimulados por el antígeno, los primeros se

INTRODUCCIÓN

producen de forma natural, sin exposición a antígenos, son poliespecíficos, ya que son capaces de reaccionar contra múltiples antígenos endógenos y exógenos pero que comparten alguna similitud estructural, son IgM y se producen por un subgrupo de células B denominadas B-1 (6) y son fundamentales en los primeros meses de vida para la protección a la infección, posteriormente la producción de anticuerpos estimulados por antígenos le superan (6).

El desarrollo del linfocito B dependiente del antígeno requiere de 3 fases: activación, se refiere al paso de la célula B de un estado de reposo o inactividad al reinicio del ciclo celular, la proliferación, que se refiere al aumento del número de células sin cambios en su morfología o bioquímica celular y finalmente la diferenciación, que hace referencia a los cambios que ocurren en la célula B que determina que se conviertan en células de memoria o productoras de anticuerpos. La generación de muchas células B específicas a partir de células B en reposo es lo que se conoce como expansión clonal (6).

La inmunidad innata y adaptativa están perfectamente integradas (figura 2), las células presentadoras de antígenos son el nexo más claro entre ellas dos. La célula dendrítica es el prototipo de célula presentadora de antígeno, estas pueden ser de dos tipos: las plasmocitoides y las convencionales (5), ellas capturan o fagocitan antígenos por diferentes vías, por ejemplo, macropinocitosis, los cuales son degradados y sus péptidos son "presentados" en la membrana plasmática a través de los receptores del complejo de histocompatibilidad (5). De esta manera las células dendríticas transportan estos antígenos o sus péptidos a los ganglios linfáticos y los presentan a los linfocitos T y este último inicia una respuesta inmune. Otros tipos celulares capaces de presentar antígenos a los linfocitos T son los propios linfocitos B y los macrófagos (1). El proceso de presentación de antígenos a los linfocitos B es menos conocido, no obstante, ellos

INTRODUCCIÓN

pueden reconocer antígenos de diferentes clases de forma autónoma (1).

El receptor de linfocito T α - β o el receptor γ - δ forman un heterodímero unido de forma no covalente con el complejo CD3 en la membrana celular, el cual está presente en todas las células T. El receptor linfocítico unido al CD3 y estos al receptor del complejo de histocompatibilidad de la célula presentadora de antígeno forman la unidad básica del reconocimiento antigénico del linfocito T con la célula presentadora de antígeno (sinapsis inmunológica). Se necesitan, además, moléculas accesorias para completar el proceso de presentación de antígenos, por ejemplo, los complejos CD4, CD8, CD28, CD154 (CD40 ligando), CTLA-4, etc, forman la parte linfocítica de la sinápsis inmunológica (5) que con sus contrapartes en la célula dendrítica: moléculas tipo I y II del complejo de histocompatibilidad, CD80, CD86 (B7-1, B7-2), CD40 forman la sinápsis inmunológica. En este proceso de activación linfocítica se necesitan dos señales: la primera deriva del contacto del receptor linfocítico y el CD3 con el receptor de complejo de histocompatibilidad y la segunda señal proviene de la interacción de las moléculas accesorias co-estimuladoras (5). Los términos "accesoria" o "señal co-estimuladora" pudiera hacer pensar en su poca importancia, sin embargo si estas moléculas accesorias no forman parte de la sinapsis inmunológica se produce una anergia y posiblemente la muerte del linfocito por apoptosis (5).

INTRODUCCIÓN

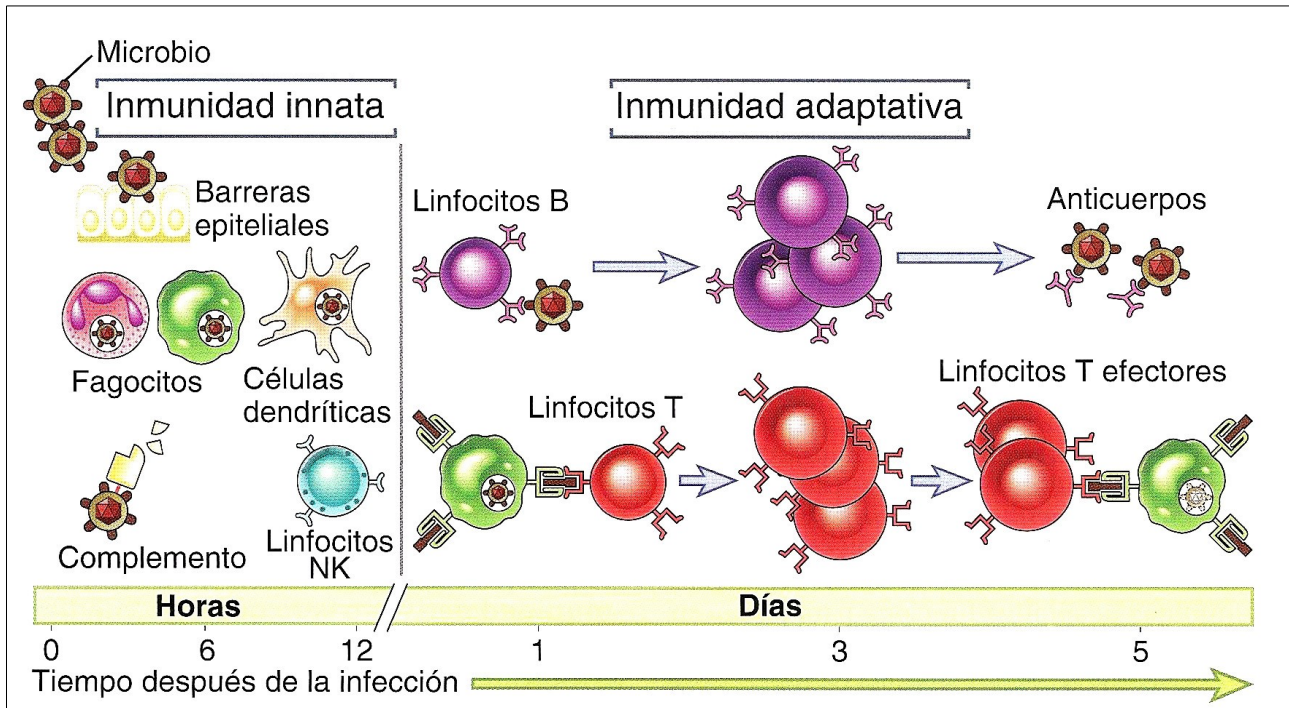


Figura 2. Esquema general de la integración de la inmunidad innata y adaptativa a partir del reconocimiento de un antígeno microbiano. El comportamiento de la inmunidad es similar ante la presencia de un antígeno no microbiano. Esta respuesta inmune varía dependiendo de la naturaleza del antígeno.

Tejidos del sistema inmunitario

Los tejidos del sistema inmunitario son los órganos linfáticos generadores donde los linfocitos maduran y se hacen competentes (médula ósea y timo) y los órganos linfáticos periféricos donde se inicia la respuesta inmunitaria adaptativa (1).

La maduración de los linfocitos B y T se realiza en la médula ósea y en el timo, respectivamente. De forma general se realiza, como se aprecia en la figura 3, a partir de un progenitor linfocítico común, y después de varios puntos de control, se garantiza que el proceso llegue a su etapa final en la cual se produce una selección de los linfocitos que no reconocen como extraños a los antígenos propios (selección positiva) y los linfocitos autorreactivos mueren por apoptosis, pues son capaces de reconocer antígenos propios y reaccionar contra ellos (selección negativa) (1), un fallo en este último paso puede generar enfermedades autoinmunitarias.

INTRODUCCIÓN

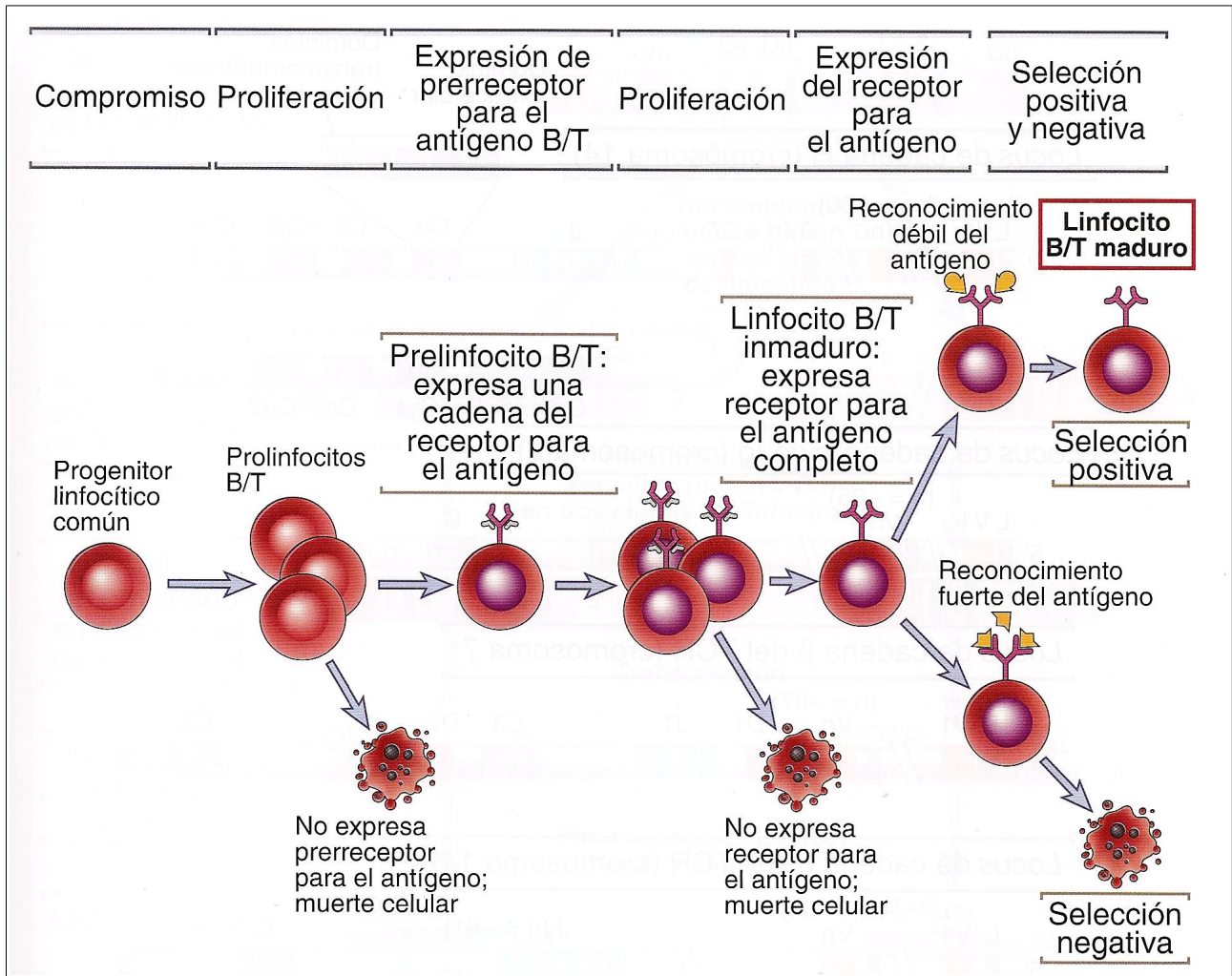


Figura 3. Proceso de maduración linfocítica. Tomado de (1).

Los órganos linfoides periféricos son los ganglios linfáticos, el bazo y los sistemas inmunitarios cutáneos y mucosos (1). Los ganglios linfáticos concentran los antígenos transportados por la linfa y el bazo realiza lo mismo pero con los antígenos transportados por la sangre. En ambos órganos los linfocitos están distribuidos de forma específica, los linfocitos B en los folículos localizados en la periferia de los ganglios linfáticos y los linfocitos T en la paracorteza, en el bazo los linfocitos B se localizan en los folículos y los linfocitos T en las vainas linfáticas periarteriales, durante la interacción con los antígenos ambos tipos de linfocitos migran hacia el borde de los folículos e interactúan (1).

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunitario cutáneo y mucoso se trata de grupos definidos de linfocitos y células presentadoras de antígenos organizada de forma parecida a como lo están en los ganglios linfáticos, por ejemplo amígdalas faríngeas y placas de Peyer del intestino (1).

El sistema inmunitario reacciona contra diversos antígenos pero no lo hace, habitualmente, contra antígenos propios, es lo que se conoce como tolerancia inmunitaria (1). Cuando esta tolerancia falla se producen las enfermedades autoinmunitarias.

Autoinmunidad

- Autoinmunidad. Generalidades.

Los antígenos que inducen tolerancia inmunitaria se conocen como tolerógenos, los antígenos propios, normalmente, son tolerógenos. Por otra parte, en algunas situaciones, los linfocitos específicos para un antígeno no reaccionan contra él, actúan como si no existiera, este fenómeno se denomina ignorancia inmunitaria (1,7).

¿Qué es lo que determina que haya tolerancia o activación de la respuesta inmune? Básicamente la naturaleza del antígeno y las señales que se desencadenan una vez presentado el antígeno al sistema inmunitario (1).

La tolerancia se puede desarrollar en los órganos linfáticos generadores al entrar en contacto los linfocitos en desarrollo con los antígenos propios (tolerancia central) o cuando los linfocitos maduros entran en contacto con antígenos propios en los órganos linfáticos periféricos (tolerancia periférica) (1). Figura 4.

INTRODUCCIÓN

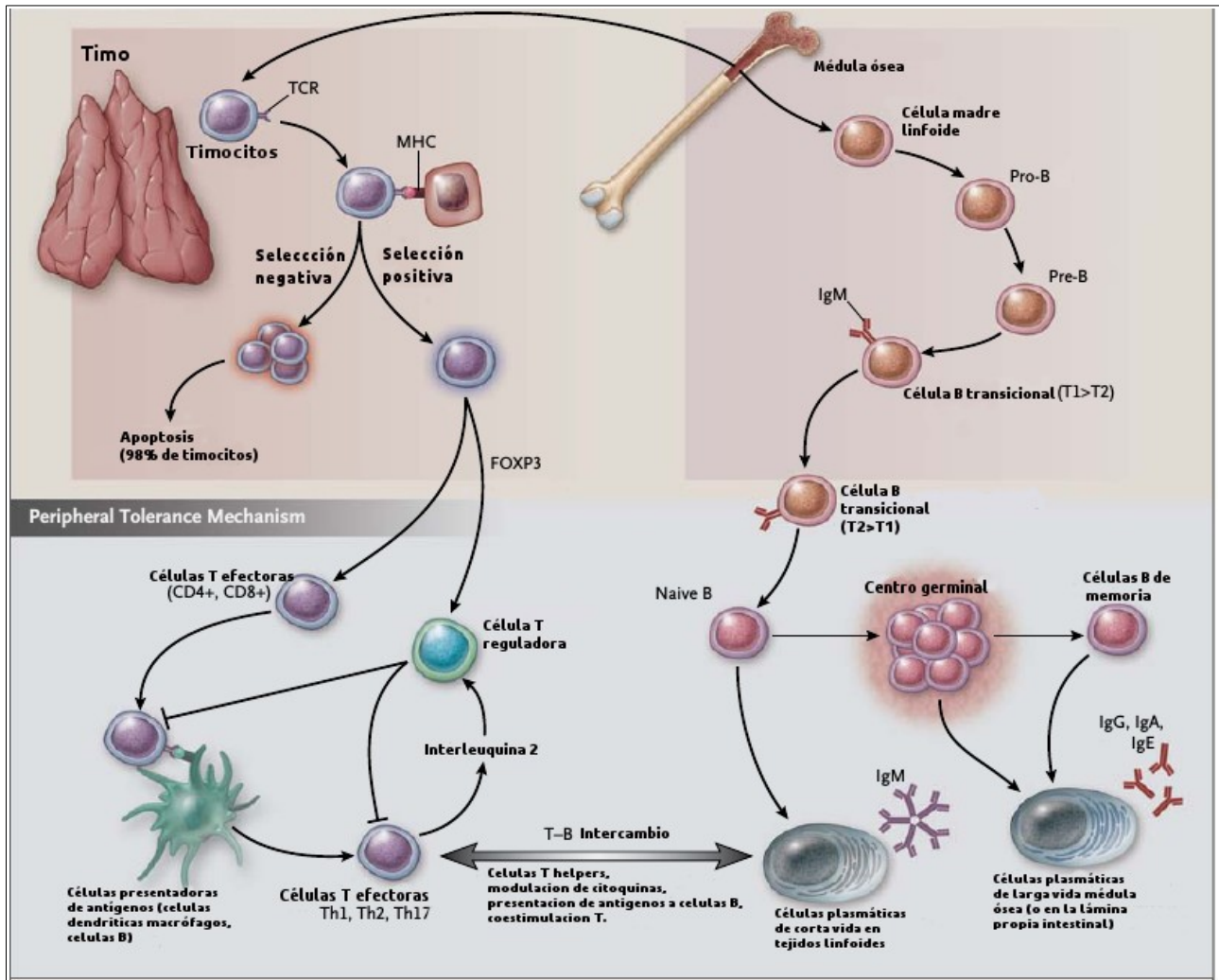


Figura 4. Mecanismos de tolerancia. Tomado de (8).

Tolerancia central del linfocito T

Si un linfocito inmaduro interactúa fuertemente con un antígeno propio unido a una molécula del complejo principal de histocompatibilidad, habitualmente recibirá fuertes señales apoptóticas y morirá antes de completar su maduración (selección negativa) (1,7). No se conoce cómo estas señales conducen a la apoptosis y no a la activación y proliferación celular (1).

Tolerancia periférica del linfocito T

Para la activación de los linfocitos T se necesitan dos señales, como se ha descrito anteriormente, se cree que las células dendríticas en los tejidos normales y en los

INTRODUCCIÓN

órganos linfáticos periféricos se encuentran en estado de reposo en el cual no expresan moléculas coestimuladoras porque no hay respuesta innata acompañante.

Cuando los linfocitos T maduros reconocen antígenos propios en los tejidos periféricos lleva a una inactivación funcional (anergia), a la muerte o a que estos linfocitos autorreactivos sean suprimidos por los linfocitos T reguladores.

La anergia se refiere a la inactivación prolongada de los linfocitos T cuando estas células reconocen antígenos sin la coestimulación adecuada, con el consiguiente bloqueo de las señales hacia el interior del linfocito evitando su activación, en algunos casos se relaciona con la activación de enzimas que modifican las proteínas de transmisión de señales (1). Otros mecanismos descritos que pueden llevar a la inactivación del linfocito T es a través de inhibidores como el CTLA4 y la proteína de muerte celular 1 (1).

El reconocimiento del antígeno propio estimula la producción de proteínas proapoptóticas en los linfocitos T autorreactivos, que inducen la muerte celular por vía mitocondrial, en las que varias proteínas mitocondriales salen y activan a las caspasas, enzimas citosólicas que inducen la apoptosis (1). Se han descrito otros mecanismos de inducción de apoptosis en los linfocitos autorreactivos, por ejemplo a través de la unión de receptores mortales-ligando siendo el mejor conocido el Fas (CD95) y el Fas ligando (FasL).

La mayoría de los linfocitos T reguladores son CD4+, se desarrollan en el timo o en los tejidos periféricos y pueden suprimir las respuestas inmunitarias produciendo citoquinas que inhiben la activación de los linfocitos, células dendríticas y macrófagos (1).

Tolerancia central del linfocito B

Los linfocitos B inmaduros pueden interactuar fuertemente con antígenos propios en la médula ósea, si esto ocurre el linfocito puede ser eliminado o modificar sus receptores

INTRODUCCIÓN

de membrana (edición del receptor) (1,7), proceso que no es nada raro, pues puede haber ocurrido hasta en el 50% de los linfocitos B maduros (1).

En general la tolerancia central tanto de linfocitos B como de linfocitos T es menos eficiente que la producida en tejidos linfoides periféricos (7).

Tolerancia periférica del linfocito B

En los tejidos linfáticos periféricos, cuando el linfocito B reconoce un antígeno propio puede no activarse por la ausencia de señal proveniente de los linfocitos T cooperadores (anergia del linfocito B), en este caso dichos linfocitos B pueden ser excluidos de los ganglios linfáticos y morir por apoptosis o porque receptores inhibidores de los linfocitos B pueden unirse a sus ligando e impedir así su activación (1).

La autoinmunidad es la respuesta inmunitaria contra antígenos propios y puede desencadenar enfermedades, no obstante, en muchas de las enfermedades autoinmunitarias no se ha demostrado la respuesta inmune contra tipos específicos de antígenos propios (1,7). La herencia de genes de susceptibilidad y los desencadenantes ambientales son fundamentales en la patogenia de estos trastornos (1), los primeros interfieren en la vías de tolerancia a lo propio y llevan a la persistencia de linfocitos T y B autorreactivos, los segundos, los estímulos ambientales (infecciones, traumatismos, radiaciones, etc), pueden provocar lesión celular, tisular e inflamación, lo cual permite la participación de los linfocitos autorreactivos los cuales lesionan los tejidos y producen enfermedad (1). Figura 5.

INTRODUCCIÓN

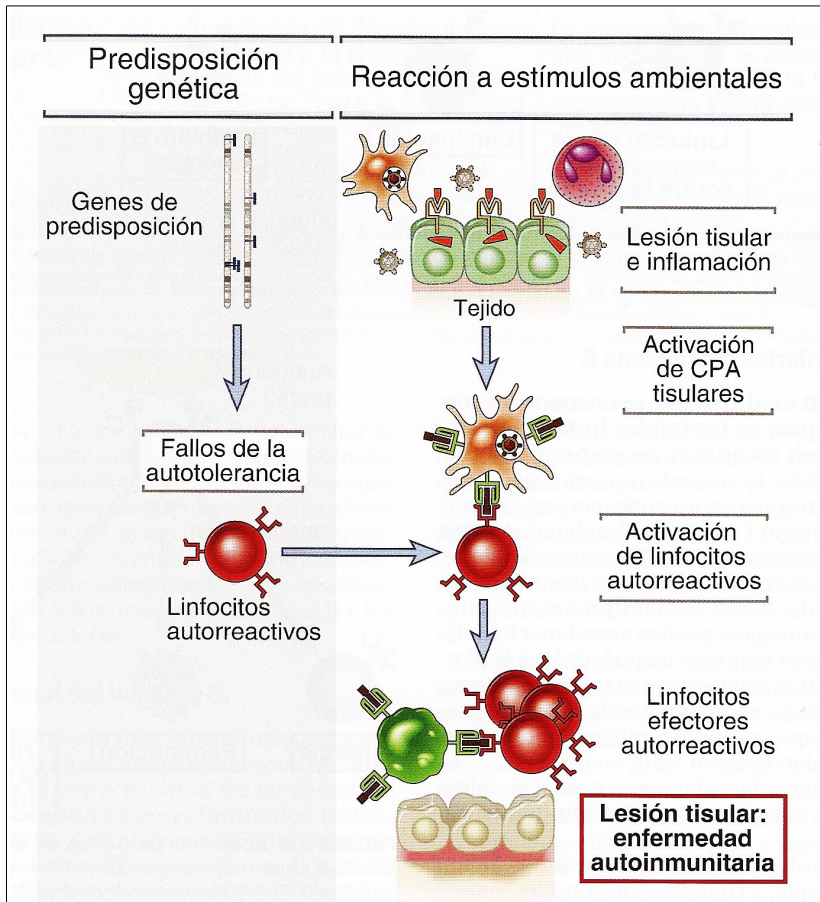


Figura 5. Mecanismos de autoinmunidad. Tomado de (1).

La predisposición genética a padecer enfermedades autoinmunes se atribuye a múltiples loci que tienen relación con la señalización intracelular que lleva a la activación de las células T y B, también relacionados con señalización para producción de citoquinas (8), pero los más importantes están localizados en el complejo principal de histocompatibilidad cuyas variantes pueden tener una fuerte asociación con algunas de estas enfermedades, por ejemplo, el HLA B27 induce un 90% de riesgo relativo a sus portadores para padecer espondilitis anquilosante, en otros casos la asociación es menos consistente como el HLA DR3 para el lupus eritematoso sistémico o el HLA DR4 (epítipo compartido) para la artritis reumatoide (1,8).

No obstante, hay polimorfismos no relacionados con genes diferentes al HLA y que predisponen a padecer enfermedades autoinmunes, es el caso de polimorfismos en el

INTRODUCCIÓN

gen de la fosfatasa de tirosina de la proteína N22 que regula la activación de los linfocitos T y B y predispone a padecer enfermedades como la artritis reumatoide y la diabetes mellitus tipo 1 (1) pero para el desarrollo de una enfermedad autoinmune no basta con la susceptibilidad genética. La presencia de linfocitos T CD4+ autorreactivos es fundamental para el desarrollo de enfermedades autoinmunes (7).

Algunos microbios, como la infección por virus Epstein Bar o antígenos ambientales no identificados pueden producir antígenos peptídicos que son similares a antígenos propios y mostrar reactividad cruzada con ellos, lo cual podría dar lugar a un ataque inmunitario contra antígenos propios, esto se conoce como mimetismo molecular (1,7).

La implicación del mimetismo molecular en la patogenia de la autoinmunidad y el desarrollo de enfermedades autoinmunes no es bien conocido (1). El traumatismo tisular, que expone antígenos propios, previamente ocultos, al sistema inmunitario, la exposición a la luz solar o el género son otros contribuyentes con más o menos peso al desarrollo de autoinmunidad (1). Un ejemplo claro es el tabaquismo que implica un riesgo a padecer artritis reumatoide (riesgo relativo de 1,5), sin embargo, si al tabaquismo se le asocian ciertas variantes del HLA y del PTPN22 el riesgo relativo se incrementa a un factor de 20 y esta relación está casi restringida a aquellos individuos portadores de anticuerpos contra péptidos citrulinados (8). Otra hipótesis para el desarrollo de autoinmunidad plantearía la producción de autoanticuerpos por reactividad cruzada contra péptidos generados por la lectura antisentido del DNA, cuya lectura en sentido "correcto" genera un autoantígeno (7).

En algunas enfermedades autoinmunes se producen autoanticuerpos contra enzimas, por ejemplo, en la cirrosis biliar primaria se dirigen anticuerpos contra enzimas del citocromo P450, estas enzimas están distribuidas en todo el cuerpo pero sin embargo la

INTRODUCCIÓN

enfermedad es solamente órgano-específica (7). Por otro lado, en otras enfermedades autoinmunes el efecto nocivo no está mediado directamente por autoanticuerpos, sino a través de células T citotóxicas las cuales además, pueden activar los macrófagos que a su vez pueden producir daño tisular a través de citoquinas y especies reactivas de oxígeno. No obstante, en la enfermedad humana es muy difícil separar si el daño es producido exclusivamente por autoanticuerpos (asociado a respuesta Th2) o por citotoxicidad mediada por células (asociado a respuesta Th1), además de que otros tipos celulares juegan roles importantes en la respuesta autoinmune como son las células Th17 y las células T reguladoras (7). Incluso una misma sustancia puede tener valor patogénico en la respuesta inmune normal contra virus y en la autoinmunidad, es el caso del interferón, donde se ha demostrado asociación entre incrementos de la expresión del factor 5 regulador del interferón (IRF5) y el lupus, artritis reumatoide y cirrosis biliar primaria (8).

- El lupus y la artritis reumatoide como paradigmas de la autoinmunidad

No hay una enfermedad autoinmune exclusivamente por alteraciones de la inmunidad humoral o por alteraciones exclusivamente de la inmunidad celular, pero en el LES las alteraciones más típicas son la producción de autoanticuerpos y en la AR las alteraciones predominantes son de la inmunidad celular.

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica inflamatoria, de origen desconocido que puede afectar todos los órganos y tejidos del cuerpo y se caracteriza por la producción de autoanticuerpos (9).

Los autoanticuerpos (autoAc) más importantes en el LES son los anticuerpos antinucleares (ANA), están dirigidos contra autoantígenos localizados en los núcleos celulares, tienen una sensibilidad del 100% y una especificidad del 86% en el LES y un valor predictivo positivo del 12-49% (10). Estos autoAc pueden estar presentes en otras

INTRODUCCIÓN

enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide (AR), la enfermedad mixta del tejido conectivo, la esclerosis sistémica, la cirrosis biliar primaria y la colangitis esclerosante primaria, entre otras (10). La detección de los ANA puede realizarse por inmunofluorescencia indirecta la cual ofrece diferentes patrones: homogéneo, moteado, centromérico y nucleolar que desde el punto de vista de una enfermedad en particular no es específico(11). Sin embargo, el significado de los títulos de ANA (determinación semicuantitativa) es más importante, aunque mantiene cierto grado de no especificidad, por ejemplo, diluciones de 1/40 pueden estar presentes en el 32% de voluntarios sanos, sin embargo, las diluciones de 1/160 sólo se detectan en el 5% de voluntarios sanos, por tanto, podemos considerar como punto de corte la dilución de 1/160 como el punto óptimo para detección de casos con enfermedades autoinmunes (11).

La incidencia del LES, de forma general, es de 1-10 por 100000 habitantes y año, es más común en zonas urbanas que rurales, es menos común en europeos y en americanos de origen europeo que en americanos originarios de otras razas, es raro en África y sin embargo más frecuente en individuos de origen africano fuera de este continente, finalmente hay un claro predominio en el sexo femenino con una proporción de 9:1 (12,13) y en la mayor parte de los pacientes se inicia entre los 15-40 años (13).

La etiología de esta enfermedad es desconocida pero hay factores genéticos, hormonales, inmunológicos y ambientales que juegan un papel fundamental en el desarrollo de esta enfermedad (Figura 6).

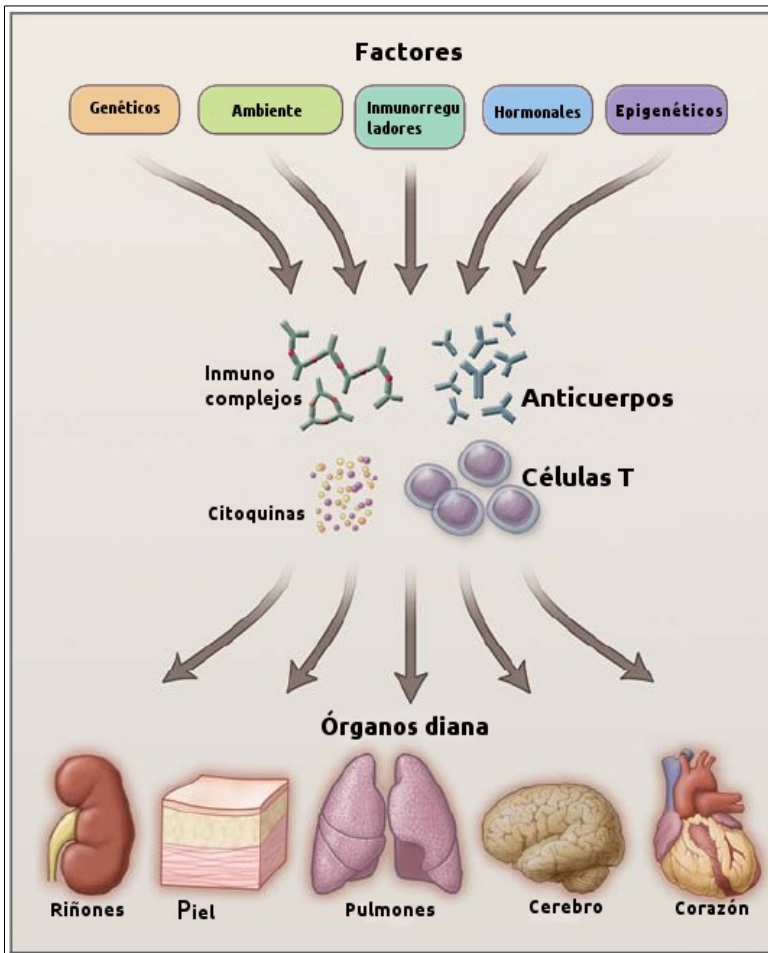


Figura 6. Patogénesis del lupus eritematoso sistémico. Tomado de (14).

Factores genéticos para el desarrollo de LES

Los factores genéticos HLA-no relacionados que muestran asociación con el LES se pueden subdividir en 3 grandes grupos: genes relacionados con el aclaramiento y procesamiento de inmunocomplejos, genes de la familia del receptor Fc de las inmunoglobulinas, genes relacionados con la señalización TLR/interferón α y con la transducción de la señal inmune en las células T y B. De estos genes los que aportan un cociente de riesgo (*hazard ratios*) entre 5-25 son los cambios en el gen que codifica para componentes del complemento como el C1q, que interviene en el aclaramiento de células apoptóticas, en el C4A, B, C2 o la presencia de mutaciones en el gen TREX1, este último codifica para la síntesis de enzimas que degradan el DNA. Sin embargo la

INTRODUCCIÓN

predisposición genética más común se encuentra en los genes de la región HLA. Los loci más fuertemente relacionados son el HLA-DR2 y HLA-DR3, con un cociente de riesgo (hazard ratio) de aproximadamente 2 (12,13). Los genes de la vía del interferón α y de vías de señalizaciones internas de los linfocitos tienen menos influencia sobre la predisposición a padecer LES (12). Además de las modificaciones genéticas citadas, pueden haber modificaciones epigenéticas con importancia patogénica en el LES, por ejemplo, la hipometilación del DNA que afecta su transcripción o la presencia de factores de transcripción que interactúan con la región promotora de algunos genes y que también modifican la transcripción (12).

Factores hormonales para el desarrollo de LES

El papel etiológico de las hormonas en el LES es conocido y puede estar relacionado con los efectos de estas hormonas en la respuesta inmune. Los estrógenos estimulan a los timocitos, a los linfocitos CD4+ y CD8+, a los linfocitos B y a los macrófagos y la liberación de citoquinas y moléculas de adhesión, por su parte los andrógenos tienden a ser inmunosupresores (12). La progesterona disminuye la proliferación de las células T e incrementa el número de células CD8+ y la hiperprolactinemia está asociada con brotes actividad del lupus (12).

Alteraciones inmunitarias para el desarrollo de LES

El lupus es primariamente una enfermedad con alteraciones en la respuesta inmune, los mediadores de estas alteraciones son los autoAc y la formación de inmunocomplejos. Los primeros pueden estar presentes varios años antes de la aparición de los síntomas (12).

De particular importancia es la relación que existe entre la actividad del LES y los niveles de INF α . Este interferón aumenta la expresión de moléculas HLA de clase I, de diversas

INTRODUCCIÓN

quimiocinas, favorece la activación y supervivencia de linfocitos T e inhibe el desarrollo de células T reguladoras. La principal fuente de INF α son las células dendríticas plasmocitoides, que son una pequeña población de células mononucleares circulantes. En los sujetos con LES falla la inhibición fisiológica que ejercen las células *nk*, inducidas por los macrófagos sobre las células dendríticas plasmocitoides (13).

Los neutrófilos también juegan un papel importante en la patogenia del LES pues se ha visto que en estos pacientes los neutrófilos tienen reducida su capacidad fagocítica con peor eliminación de material apoptótico. Los pacientes con LES tienen mayor cantidad de formas inmaduras de neutrófilos con fenotipo proinflamatorio (13). En este mismo contexto se ha descrito la NETosis que es una función fisiológica de los neutrófilos quienes, al sufrir muerte celular, con salida extracitoplasmática de material cromatínico acompañado de proteínas neutrofílicas con capacidad antimicrobiana, se forma una red con todo este material de los neutrófilos muertos donde pueden quedar atrapados los microorganismos y destruirse. Lógicamente este fenómeno es muy tóxico y está sujeto a diversos controles. En algunos pacientes con LES se han demostrado deficiencias en los mecanismos de eliminación de este material, su persistencia en sangre se correlaciona con la actividad lúpica y con la hipocomplementemia y sirve de estímulo a las células dendríticas plasmocitoides con la consiguiente producción de INF α que a su vez induce aumento de la activación neutrofílica y del propio fenómeno de NETosis creando un círculo vicioso (13).

Algunas de las alteraciones inmunitarias presentes en el LES son las siguientes (12,13):

- Linfocitos B: alteraciones en la edición del receptor y en los procesos de eliminación de linfocitos autorreactivos.
- Linfocito T: Alteraciones en las vías de señalización intracelular, alteraciones en

INTRODUCCIÓN

algunos factores de transcripción, alteraciones en el control epigenético como la hipometilación del DNA o acetilación de las histonas.

- Incremento de las células plasmáticas circulantes (productoras de autoanticuerpos).
- Disminución de las células T citotóxicas y de las células T supresoras.
- Incremento de las células T cooperadoras
- Incremento de la expresión de los receptores BAFF (BlyS) que a su vez puede promover la autoinmunidad.

Las anteriores y otras muchas alteraciones inmunitarias promueven la producción de anticuerpos antinucleares y otros autoAc contra antígenos propios (12).

Los inmunocomplejos juegan un papel fundamental en el daño tisular en el LES, son formados en grandes cantidades por los ANA que se unen al abundante material nuclear de la sangre y los tejidos, no son debidamente aclarados y desencadenan activación del complemento con el consiguiente daño tisular (14).

Factores ambientales para el desarrollo de LES

El ambiente puede constituir el gatillo que desencadene las alteraciones inmunes en el LES, a través de mecanismos como el mimetismo molecular u otros desconocidos. Se le han atribuido cierto valor patogénico a los virus, por ejemplo, el virus Epstein-Barr o retrovirus endógenos, a la luz ultravioleta, al polvo de sílice y a ciertos medicamentos (12).

A pesar de que los factores etiológicos en el LES no están claros, sí se conoce que muchas de las manifestaciones de esta enfermedad son mediadas, directa o indirectamente, por la producción de autoAc y la formación de inmunocomplejos, por ejemplo, el depósito de inmunocomplejos y la consiguiente activación del complemento

INTRODUCCIÓN

es el responsable del daño tisular en la nefritis lúpica (12).

En el otro extremo del espectro autoinmune se encuentra la **artritis reumatoide (AR)**, que es la forma más común de artritis inflamatoria y afecta al 0,5-1% de la población. El inicio de una AR es la conjunción de una predeterminación genética y a la aparición de fenómenos estocásticos (Figura 7). Dentro de los genes de susceptibilidad los más importantes son determinados alelos del complejo mayor de histocompatibilidad, específicamente el HLA DRB1 (DR4 y DR1) o epítipo compartido, estas variantes alélicas comparten, en la proteína generada y expresada, la secuencia aminoacídica glutamina-leucina-arginina-alanina-alanina en el dominio implicado en la presentación de antígenos (15). Otros genes con alguna implicación en la susceptibilidad a padecer AR son: PTPN22 con *odds ratio* 1,94 (1,81-2,08) , TNFAIP3 con *odds ratio* 1,40 (1,24-1,58), IRF5 con *odds ratio* de 1,25 (1,14-1,37), entre otros (15).

Por su parte la contribución del ambiente al interactuar con los genes aumenta la susceptibilidad a padecer AR, el caso mejor conocido es el tabaquismo que aumenta entre 1,5-2 veces la probabilidad de debutar con una AR (15,16), aunque hay agentes infecciosos que también se han vinculado al desarrollo de AR, es el caso del virus Epstein Bar, parvovirus B19, retrovirus, bacterias asociadas a enfermedad periodontal (*Porphiromonas gingivalis*) y micobacterias (15).

El mecanismo por el cual el ambiente favorece el desarrollo de AR no se conoce bien, pero lo más probable es que haya una activación repetitiva de la inmunidad innata, un elemento central es la inducción de enzimas como la peptidil arginina deaminasa que convierte la arginina en citrulina, lo cual no es específico de la AR y ocurre frecuentemente en situaciones de estrés ambiental como puede verse en los macrófagos alveolares de los fumadores (16) pero que en la AR este aumento de

INTRODUCCIÓN

péptidos citrulinados induce la formación de anticuerpos antiproteínas citrulinadas (anti-PCC) que junto al factor reumatoide pueden aparecer más de 10 años antes que la artritis clínica (16).

Los anti-PCC no son verdaderos autoanticuerpos pues ellos reaccionan contra proteínas modificadas (citrulinadas) y no necesariamente son los causantes de la AR aunque pudieran exacerbar la sinovitis. Pero, ni la predisposición genética ni la producción de anti-PCC desencadenan una AR, se necesita de un segundo “*hit*”, proceso que puede estar mediado por inmunocomplejos que pueden atraer células del sistema inmune innato sinovial como los mastocitos, daño vascular y aumento de la permeabilidad, aumento del complemento en la articulación, reclutamiento de células inmunes e inflamación (16). La sinovial reumatoide contiene sinoviocitos *fibroblastos-like* que pueden migrar de una articulación a otra explicando, quizás, el carácter simétrico y difuso de la artritis de la AR (16).

Una vez que ocurre la citrulinización de proteínas, las células presentadoras de antígenos se “cargan” con estos autoantígenos y migran hacia los órganos linfoides y presentan estos antígenos a los linfocitos T los cuales pueden activar a los linfocitos B y/o migrar a la sinovial (16).

Por el efecto etiológico-patogénico de los autoAc en la AR pudiera pensarse que es una enfermedad autoinmune, como el LES, en la cual el modelo de formación de autoAc es básico en la patogenia de la AR, pero este modelo tiene lagunas como: que existen al menos un 20% de los casos con AR en los que no se detectan autoAc, que los autoAc pueden preceder a la enfermedad muchos años e incluso no desarrollarse esta y que los autoAc pueden persistir a pesar de una remisión clínica terapéuticamente inducida (15).

INTRODUCCIÓN

Linfocitos T

Los linfocitos T son las células predominantes en la sinovial reumatoide, alrededor del 50%, la mayoría de ellos de tipo CD4+, con alta prevalencia de expresión del HLA DR4 y preponderancia de los Th1 y Th17 sobre los Th2 y T reguladores (16).

El antígeno

No parece existir un sólo antígeno reumatoide, en su lugar parece existir un espectro de antígenos y dependiendo del antígeno se determinarán aspectos clínicos como variabilidad de paciente a paciente, de articulación a articulación (16). Algunos antígenos implicados son: el colágeno tipo II, gp39 (*Cartilage antigen glycoprotein-39*), inmunoglobulinas como el factor reumatoide, péptidos y proteínas citrulinadas, péptidos y proteínas carbamilados (16).

Coestimulación

Se sugiere que las moléculas costimuladoras están en exceso en los tejidos reumatoides lo cual implica que la estimulación del linfocito T puede ser independiente del antígeno con ciclos autopropagados de proliferación de células T que mantienen el proceso autoinmune (16).

Apoptosis

Se ha señalado como posible mecanismo subyacente en las células T de la AR: se han encontrado mutaciones en el gen p53, otra evidencia es que las estatinas lipofílicas pueden inducir apoptosis en los sinoviocitos reumatoides (17).

Red de citoquinas

La elaboración de citoquinas proinflamatorias juegan un papel fundamental en la iniciación y perpetuación de la artritis reumatoide, por ejemplo, el factor estimulante de colonias granulocito-macrófagos, las IL-2, IL-15, IL-13, IL-17, IL-18, interferón γ (IF- γ), TGF-

INTRODUCCIÓN

β (transforming growth factor-beta) y el factor de necrosis tumoral (TNF), este último es una citoquina central en un grupo de pacientes demostrado por la buena respuesta a la utilización de los fármacos biológicos anti-TNF (18,19).

Citoquinas asociadas a Th1 y Th17

La AR se ha considerado como una enfermedad mediada por Th1, caracterizada por incremento de la actividad del TNF, IL-2, IF- γ e IL-12, sin embargo, los linfocitos Th17 son las células dominantes en la AR, lo cual cambia la visión general de la AR y las citoquinas derivadas de las células Th17 adquieren más valor patogénico, no obstante su rol no está del todo claro sobretodo porque terapias bloqueantes de la IL-17 no obtienen buena respuesta en los sujetos con AR (16,20).

Linfocitos B

En la AR se detectan anticuerpos contra epítopos de la fracción Fc de inmunoglobulinas, conocido como factor reumatoide, aquellos pacientes con este anticuerpo, comparativamente con los casos seronegativos, tienen más erosiones, más manifestaciones extraarticulares y peor funcionalidad (16). El factor reumatoide puede formar inmunocomplejos con inmunoglobulinas, depositarse en la superficie articular o permanecer en el líquido sinovial y en este último estimular la producción de TNF de los monocitos/macrófagos(16). Por su parte los anticuerpos anti-PCC se pueden detectar en estadios tempranos de la enfermedad y en el 70% de los sujetos con AR (16) y tienen un importante valor patogénico en el inicio de la cascada inmunológica en esta enfermedad. El valor patogénico de los linfocitos B queda refrendado por el uso del rituximab en el tratamiento de la AR (19,21).

Sistema nervioso central

El sistema nervioso central está normalmente involucrado en la regulación inmune y la

INTRODUCCIÓN

homeostasis. Diferentes neurotransmisores son expresados en la sinovial reumatoide así como que la síntesis de diversas citoquinas es estimulada por el hipotálamo durante la inflamación periférica. Estas interacciones son importantes y han sido demostradas en modelos de ratones con artritis (22).

Otros actores en la patogenia de la AR

En la patogenia de la AR existen otros actores que condicionan la destrucción del cartílago articular, del hueso subyacente y contribuyen a la perpetuación del proceso autoinmune-inflamatorio, por ejemplo los sinoviocitos fibroblasto-*like* y los leucocitos polimorfonucleares, así como también sustancias con efecto nocivo sobre las estructuras articulares, como las metaloproteinasas, metabolitos del ácido araquidónico, complemento, óxido nítrico, neuropéptidos, factores de la coagulación, etc (16).

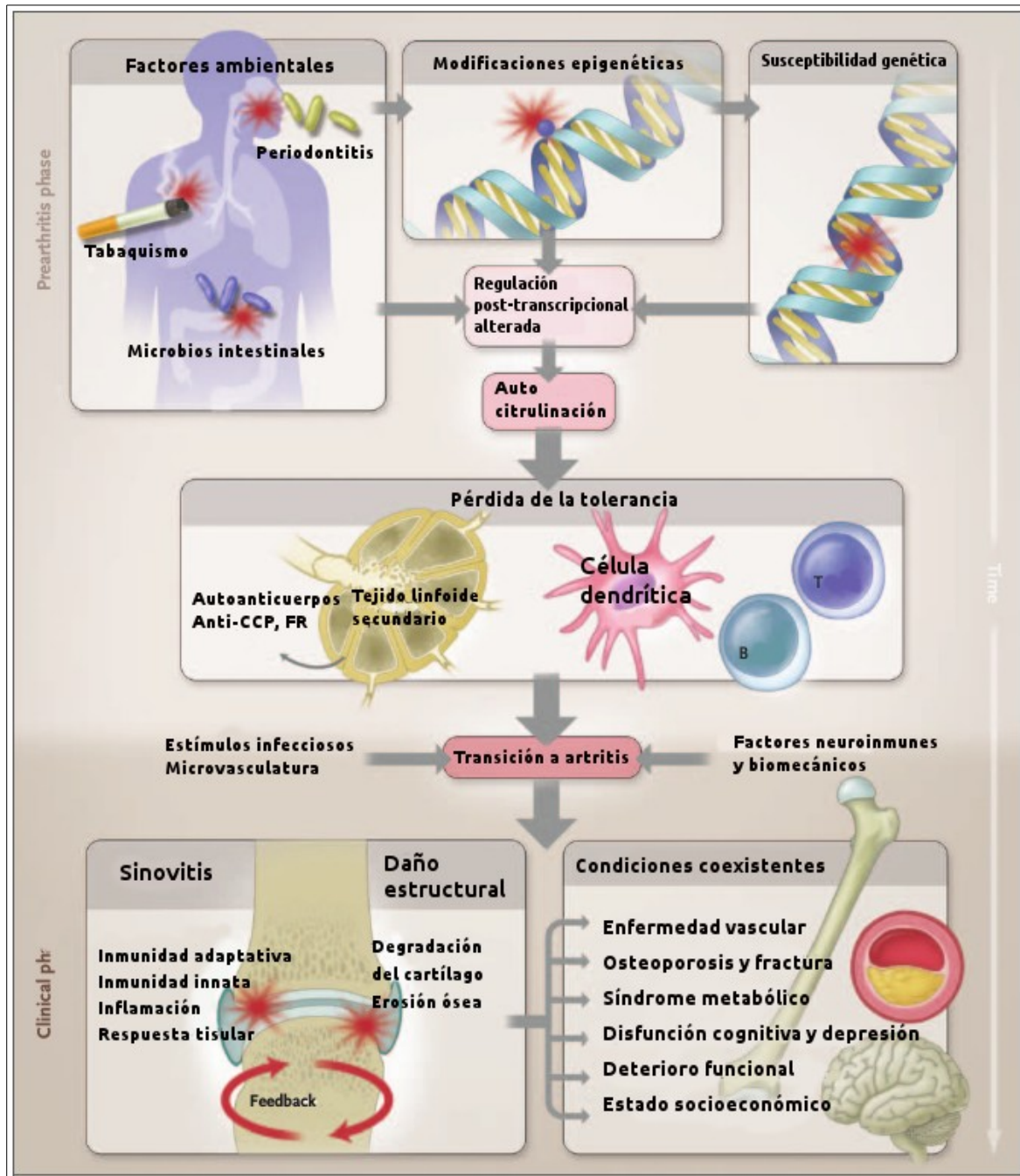


Figura 7. Patogénesis de la artritis reumatoide. Tomado de (22).

- Patología biliar autoinmune

La cirrosis biliar primaria (CBP) es una enfermedad autoinmune de las vías biliares (VB) que afecta fundamentalmente a mujeres (95%) entre 30 y 65 años (23,24), con una incidencia de 4,5 y 0,7 por 100000 personas-años para mujeres y hombres, respectivamente, que va en aumento, probablemente por una mejor detección de la

INTRODUCCIÓN

enfermedad, y una prevalencia de 65,4 y 12,1 por 100000 personas para mujeres y hombres, respectivamente (23,25).

La enfermedad es causada por un ataque mediado por linfocitos T contra los conductos biliares intralobulares, lo cual conduce a la destrucción gradual y desaparición de estos conductos, llevando al desarrollo de cirrosis y fallo hepático. Se ha descrito una agrupación familiar de casos, lo cual apoya la hipótesis de una susceptibilidad genética, asociándose fundamentalmente al complejo de histocompatibilidad de clase II (DR), aunque hay otros genes implicados como el complemento, CTLA4 y el TNF α (23).

La hipótesis del mimetismo molecular ha sido ampliamente propuesta como mecanismo de inicio de la autoinmunidad en la CBP y se han planteado diferentes agentes, pero ninguno se ha probado consistentemente (23,26):

- Virus: Retrovirus
- Bacterias: *Propionibacterium acnes*, *Chlamydia pneumoniae*, *Escherichia coli*, y otras bacterias como los lactobacilos y el *Novosphingobium aromaticivorans*, que es un organismo ubicuo, gram negativo, que metaboliza compuestos orgánicos y estrógenos, dos de sus proteínas comparten homología con el componente E2 de la piruvato deshidrogenasa que es el epítipo más conocido de los anticuerpos antimitocondriales (AMA).
- Productos químicos: hidrocarburos alogenados
- El tabaquismo es uno de los factores externos asociados al desarrollo de CBP en estudios epidemiológicos, incluso con un estadio de fibrosis más avanzado

Estudios epidemiológicos también han vinculado el desarrollo de CBP con la terapia hormonal de reemplazo (hormonas reproductoras), infecciones del tracto urinario o, incluso, el uso de esmaltes de uña (24).

INTRODUCCIÓN

La fatiga y el prurito son los síntomas cardinales de la enfermedad, aunque hay otras manifestaciones como la hiperpigmentación de la piel, artritis, síndrome de CREST, síndrome seco, osteoporosis y manifestaciones de insuficiencia hepática y cirrosis (23). Otras manifestaciones como dermatografismo, xantelasmas, xantomas y el anillo de Kayser-Fleischer son menos prevalentes. La ictericia es mayor en la medida que avanza la enfermedad (23). Desde el punto de vista analítico se caracteriza por elevación de la fosfatasa alcalina, en menos medida de las aminotransferasas y aumento de la bilirrubina en la medida que progresa la enfermedad (23).

El tratamiento de esta enfermedad va dirigido a paliar los síntomas y complicaciones resultado de la colostasis crónica y la supresión del proceso patogénico subyacente. Una de las complicaciones de la colostasis son los xantelasmas, los xantomas tuberosos y los xantomas planos, en general estarán presentes en menos del 5% de los casos y se desarrollan en sujetos con cifras de colesterol por encima de 600 mg/dL durante más de 3 meses, su tratamiento es la plasmaféresis, lo que resulta costoso e incómodo para los pacientes (27).

El único tratamiento aprobado dirigido contra el proceso patogénico en la CBP es el ácido ursodeoxicólico, que disminuye la progresión de la enfermedad y aumenta la supervivencia. Se han ensayado otros tratamientos como la colchicina, el metotrexato, budesonida, fibratos y hasta terapia antiviral, no obstante las opciones terapéuticas una parte importante de casos terminan en trasplante hepático (27).

La **colangitis esclerosante primaria (CEP)** es una enfermedad colostásica crónica del hígado y conductos biliares, es frecuentemente progresiva y puede llevar a enfermedad hepática terminal. Tiene una tasa de incidencia de 0,7 por 100000 personas por año, predominando en hombres y la edad media de diagnóstico son los 41 años (28).

INTRODUCCIÓN

La estrecha relación entre esta enfermedad y la colitis ulcerosa sugiere un origen autoinmune y de causa multifactorial: predisposición genética más un estímulo ambiental (28).

Los sujetos con CEP tienen un incremento de la prevalencia del HLA B8, DR3 y DRw52a, el primero de estos marcadores puede estar presente en el 60-80% de los casos. El estímulo ambiental no ha sido identificado pero por la frecuente coincidencia entre CEP y colitis ulcerosa se ha planteado que el aumento de la permeabilidad del colon favorece el paso de bacterias a la circulación portal cuya consecuencia es la colangitis crónica o recurrente. Los productos bacterianos o los productos celulares secundario a la inflamación de la vía biliar pueden exponer autoantígenos (28). Una lesión isquémica producto de daño en arteriolas y capilares biliares o mutaciones que conducen a disfunción en el regulador transmembrana de la fibrosis quística son otras dos de las hipótesis que intentan explicar la patogenia de la CEP (28).

La CEP es usualmente progresiva y lleva a complicaciones propias por la colostasis y a fallo hepático. La media de supervivencia sin trasplante hepático es de 10-12 años. Habitualmente se diagnostica en sujetos asintomáticos durante un estudio por alteraciones en la función hepática. Los síntomas más frecuentes son la fatiga y el prurito y a la exploración pueden presentar ictericia, lesiones de piel por excoriación, hepatomegalia y esplenomegalia. Analíticamente encontramos un patrón de colostasis y otras alteraciones como: hipergammaglobulinemia e incremento de la IgM sérica (29). El diagnóstico de CEP se realiza fundamentalmente por colangiografía y biopsia hepática (29).

El tratamiento no quirúrgico de la CEP es, básicamente, el ácido ursodeoxicólico y al igual que en la CBP se han experimentado otras opciones terapéuticas: corticoides,

INTRODUCCIÓN

ciclosporina, tacrólimus, metotrexato, vancomicina, azatioprina y 6-mercaptopurina, D-penicilamina y etanercept (30).

Autoanticuerpos en la patología biliar autoinmune

Los ANA están presentes en 50-70% de los casos de CBP y se asocia a peor pronóstico y progresión más rápida de la enfermedad, particularmente los anti-GP210 y/o los anti-SP100 (23–25) y su prevalencia alcanza el 85% en los casos de CBP AMA-negativos (31). Aproximadamente un 27% de los pacientes son anti-SP100 positivos, un 16% anti-gp210 positivos y otro 16% son anti-centrómero positivos (31). Los anticuerpos anti-músculo liso están presentes en el 50% de los casos de CBP (24).

El antígeno anti-SP100 es un péptido de 480 aminoácidos con un peso molecular de 53kDa y la determinación del autoanticuerpo anti-SP100 es importante sobretodo en casos de CBP AMA-negativos y puede estar presente en otras enfermedades autoinmunes. Llama la atención que la tasa de positividad en pacientes con CBP e infección urinaria llega al 74% mientras que la positividad sin infección urinaria es sólo del 4% lo cual sugiere que las infecciones bacterianas pudieran estar involucradas en la patogenia de la CBP (31).

Otro de los antígenos con significado en la CBP es el gp210, que es una glicoproteína de la membrana nuclear. La presencia de altos niveles del autoAc anti-gp210 se ha asociado con mayor progresión de la CBP a fallo hepático que aquellos anti-gp210 negativos o que sus niveles se reducen con el tratamiento, pudiendo tener un valor pronóstico (31).

Finalmente, los anticuerpos anticentrómeros son la marca inmunológica del CREST y/o la esclerosis sistémica sin embargo no son exclusivos de ella y en pacientes con CBP se asocian a mayor riesgo de desarrollo de hipertensión portal (31).

Los AMA son el sello de identidad de la CBP y son fundamentales para su diagnóstico,

INTRODUCCIÓN

estando presentes en el 95% de los casos, son predictores de desarrollo de CBP en sujetos asintomáticos y con función hepática normal (23), el tiempo medio entre la aparición de AMA positivo y estudios hepáticos persistentemente anormales es de 6 años con una variabilidad de 1 a 19 años y alrededor de un 10% de los sujetos AMA positivos desarrollarán una CBP (24). No obstante, hay un pequeño grupo de casos de CBP AMA negativos y ANA y/o anticuerpos anti-músculo liso positivos, cuya evolución es similar a los casos AMA positivos, sin embargo se ha demostrado una mayor prevalencia de enfermedades autoinmunes (AR, esclerodermia) no hepáticas en casos AMA negativos, la respuesta al tratamiento es parecida en ambos grupos de sujetos (24). Los títulos de AMA varían entre los pacientes pero tienden a mantenerse estables en un individuo y no se correlacionan con la severidad ni con la tasa de progresión de la enfermedad (26).

Los AMA tienen fundamentalmente 4 principales autoantígenos conocidos como subtipos M2: la subunidad E2 del complejo de la piruvato deshidrogenasa, la cadena ramificada 2-oxo-ácido del complejo deshidrogenasa, la ácido cetoglutarico deshidrogenasa y la proteína de unión dihidrolipoamida deshidrogenasa. En el 95% de los sujetos los AMA van dirigidos contra la subunidad E2 (31). Cada uno de estos autoantígenos participan en la fosforilación oxidativa en la membrana mitocondrial (26). Durante la apoptosis de las células epiteliales biliares los antígenos E2 se mantienen intactos y se convierten en apótopes (termino utilizado para nombrar epítomos antigénicos generados durante la apoptosis) (31). Los linfocitos T CD4+ y CD8+ están presentes en altas concentraciones en la triada portal de sujetos con CBP, frecuentemente infiltrando y alrededor de los conductos biliares necróticos que expresan antígenos diana para estos linfocitos, no se conoce el porqué de la limitación

INTRODUCCIÓN

del ataque autoinmune al árbol biliar cuando los antígenos diana están presentes en todas las células del organismo (26).

Por su parte, en la CEP, los autoAc más frecuentes son los anti-músculo liso (ASMA), los ANA y los anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos de los neutrófilos (ANCA), que pueden estar presentes hasta en el 75-80% de los casos (28). Estos últimos con un patrón perinuclear (pANCA), parecen estar dirigidos contra una proteína mieloide de 50 daltons de la envoltura nuclear de los neutrófilos y no la mieloperoxidasa típica de los anticuerpos pANCA (28). Los anticuerpos pANCA tienen un 100% de especificidad para CEP comparado con controles con otras enfermedades hepáticas (32). Los anticuerpos anti-músculo liso van dirigidos contra componentes del citoesqueleto como la actina y componentes no actínicos como la tubulina, vimentina, desmina y esqueletina y no son específicos de la CEP (33). La tabla 1 muestra un resumen de los autoAc más frecuentes en la patología biliar autoinmune.

Tabla 1. Autoanticuerpos más frecuentes en la patología biliar autoinmune.

Cirrosis biliar primaria	Colangitis esclerosante primaria
ANA	ANA
Anticuerpo anti-Mitocondrial	Anticuerpo anti-Músculo liso (AntiActina)
	pANCA

Dislipemia en la patología biliar autoinmune

El 50% de los sujetos con CBP tienen aumento del colesterol total plasmático, con cifras entre 218-300 mg/dL(34). Se detecta un aumento de colesterol total y colesterol LDL (cLDL) en la medida que empeora el estado histológico del hígado, el colesterol HDL (cHDL) se eleva en estadios iniciales para descender posteriormente en casos con cirrosis (26), aunque no parece que aumente el riesgo aterogénico (34), incluso tampoco aumentan las lesiones ateroscleróticas precoces medidas por ecografía carotídea (grosor íntima-media y estenosis) al compararlo con controles sin hipercolesterolemia y sujetos

INTRODUCCIÓN

con CBP normolipémicos (35). Las cifras de colesterol total pueden exceder los 1000 mg/dL en sujetos con xantomas, sin embargo tienen elevaciones menos acusadas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) así como significativa elevación de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (35). También podemos encontrar aumento de lipoproteínas inusuales como la lipoproteína X, que aparece en estadios avanzados de enfermedad hepática colostásica y marcada hiperbilirrubinemia y pudiera reducir el efecto aterogénico de las LDL al prolongar el tiempo de oxidación de las LDL, incluso en pacientes con CBP con cifras de colesterol mayores que un grupo comparativo significativamente menos hipercolesterolémicos y con predominio del sexo masculino (36), de esta forma favorece la integridad del endotelio en casos con hipercolesterolemia severa (36).

La consecuencia de la dislipemia en la CBP es la presencia de xantelasmas y xantomas, estos últimos pueden desarrollarse en los codos, palmas, plantas, rodillas, espalda, tórax, hombros y se correlacionan con los niveles de colesterol, a diferencia de los xantelasmas en los cuales no se ha demostrado esta correlación (34).

Como se ha planteado anteriormente, pesar de la intensa dislipemia que puede existir en la CBP, el riesgo de arteriosclerosis parece ser bajo, por tal motivo el tratamiento hipolipemiente en sujetos asintomáticos no está del todo aceptado (34). Los factores que pueden contribuir a que el riesgo aterogénico no sea alto en estos pacientes son: niveles altos de cHDL, baja lipoproteína(a) (Lp(a)), presencia de lipoproteína X y altos niveles de adiponectina (34).

El tratamiento de la dislipemia en sujetos con CBP sin cirrosis se basa en el uso de ácido ursodeoxicólico, el cual es capaz de descender los niveles de cLDL hasta en un 30% debido al aumento del catabolismo del colesterol en ácido biliares y la reducción de la

absorción intestinal del colesterol (34). Los fibratos y estatinas son otros de los medicamentos usados en estos pacientes y que aportan un efecto antiinflamatorio sobreañadido al efecto hipolipemiante (34,37). Finalmente, la plasmaféresis una vez por semana, es otro de los métodos usados para reducir el colesterol con el objetivo de reducir los xantomas sintomáticos en las manos y la neuropatía compresiva (34).

Hay pocos datos acerca de las alteraciones del perfil lipídico en sujetos con CEP, aunque al ser una enfermedad con colostasis debe comportarse similar a la CBP (28,38).

Metabolismo del colesterol enfocado a la producción de ácidos biliares

El colesterol y los triglicéridos de la dieta son “empaquetados” con apolipoproteínas en los enterocitos del intestino delgado y secretados dentro de sistema linfático como quilomicrones, que posteriormente alcanzan el torrente circulatorio y su núcleo de triglicéridos es hidrolizado por la lipoproteín lipasa resultando en la formación de quilomocrones remanentes los cuales son rápidamente aclarados de la circulación y metabolizados en el hígado. El colesterol de la dieta tiene 4 posibles destinos una vez que alcanza el hígado dentro de los quilomicrones remanente: puede ser esterificado y almacenado en los hapaticitos como ésteres de colesterol, puede ser “empaquetado” dentro de las partículas VLDL y secretado al plasma, puede ser secretado directamente a la bilis o convertido en ácidos biliares (39).

Las partículas de VLDL son secretadas al plasma y sufren lipólisis transformándose en VLDL remanentes. Aproximadamente el 50% de estas VLDL remanentes son aclaradas del plasma via LDLR y el resto se transforman en LDL, que son las principales partículas de transporte de colesterol a los tejidos periféricos (figura 8) (39). El colesterol libre (no esterificado) de los tejidos periféricos, por ejemplo, de la pared arterial, puede ser transportado nuevamente al hígado a través de las partículas de HDL (40).

INTRODUCCIÓN

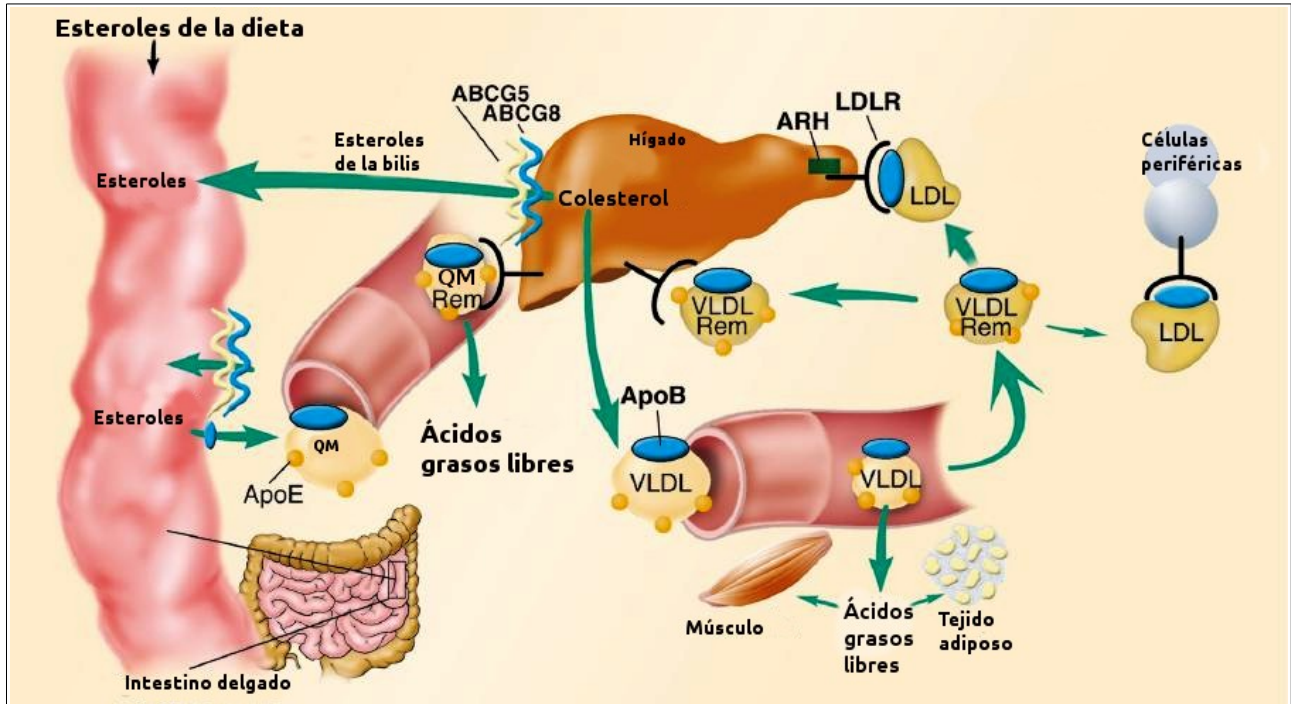


Figura 8. Metabolismo del colesterol, vías exógena y endógenas. QM: quilomicrones, Rem: remanentes, LDLR: receptor de LDL. ARH: proteína ARH. Tomado de (39).

El hígado es el destino final de las LDL, independientemente de la vía por la que son extraídas del plasma. El mecanismo de captación de las LDL se realiza fundamentalmente a través del receptor de LDL (LDLR). La unión de la apolipoproteína B100 al LDLR forma el complejo receptor-ligando, el cual es internalizado y separado del receptor por el lisosoma, dicho receptor es reciclado nuevamente a la superficie de la membrana citoplasmática (41). Para el correcto funcionamiento del LDLR se necesita la integridad de la proteína ARH, no obstante, su función no se conoce del todo pero se especula que funciona como chaperona para el LDLR o simplemente ancla dicho receptor al pocillo durante la internalización de las LDL (39).

PSCK9 (proteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9) y el degradador inducible de LDL, ubiquitina ligasa E3, modulan la captación de LDL por el LDLR, pero no afectan las vías de aclaramiento no específicas (no relacionadas con el LDLR). El mecanismo de aclarado de las LDL del plasma a través del LDLR tiene una capacidad absoluta limitada,

INTRODUCCIÓN

sin embargo las vías no específicas de aclaramiento no tienen límite absoluto de aclaramiento de partículas de LDL, no son saturables y por tanto siempre son operativas incluso con niveles bajos de cLDL (42). Una vez aclarada la LDL del plasma, el colesterol contenido en los hepatocitos tiene similares destinos que el colesterol ingerido y que alcanza el plasma con los remanentes de quilomicrones: almacenado en forma de ésteres de colesterol, transferido a las HDL, devuelto al plasma formando las VLDL, excretado en la bilis o transformado en ácidos biliares (AB) (42).

El ácido cólico y el quenodeoxicólico son los dos principales AB en humanos, una vez sintetizados son conjugados con taurina o glicina, secretados en la bilis y almacenados en la vesícula biliar. Después de la ingestión de alimentos, los ácidos biliares son liberados al intestino donde son deconjugados para participar en la digestión de las grasas. El 95% de los AB son reabsorbidos en el íleon y transportados al hígado, donde realizan un *feedback* negativo sobre la producción de ácidos biliares para mantener la homeostasis de AB (43).

Los AB activan los receptores farnesil X (FXR) y una proteína G de membrana denominada TGR5 (Gpbar1). FXR juega un papel central en la síntesis y secreción de AB y en el metabolismo hepático de lípidos y glucosa, por su parte TGR5 tiene un papel significativo en el metabolismo energético especialmente en el metabolismo del tejido adiposo marrón. El fenómeno de relajación y contracción de la vesícula aumenta la secreción de un péptido *glucagon-like* en las células endocrinas intestinales, controlando la motilidad intestinal. El TGR5 se expresa en el epitelio intestinal, en el bazo, en colangiocitos, vesícula, células endoteliales de los sinusoides hepáticos y en las células de Kupffer (43).

FXR participa en la regulación de la síntesis de AB a través de dos mecanismos: el FXR

INTRODUCCIÓN

induce inhibición de dos factores nucleares (HNF4 α y LRH-1), a través de la inhibición de un heterodímero (SHP), dichos factores nucleares inhiben al promotor del gen de las enzimas CYP7A1 y CYP8B1 (vía 1). El otro mecanismo es a través de la activación del FXR intestinal por los AB, lo cual induce al factor de crecimiento fibroblástico (FGF19), el cual activa a su receptor hepático (FGFR4) y una quinasa (JNK1/2) que a su vez y por inhibición de factores de transcripción terminan inhibiendo la activación del gen de las enzimas CYP7A1 y CYP8B1 (vía 2). Hay otras vías de inhibición de la síntesis de AB pero que son independientes del FXR (vía 3) (43). Figura 9.

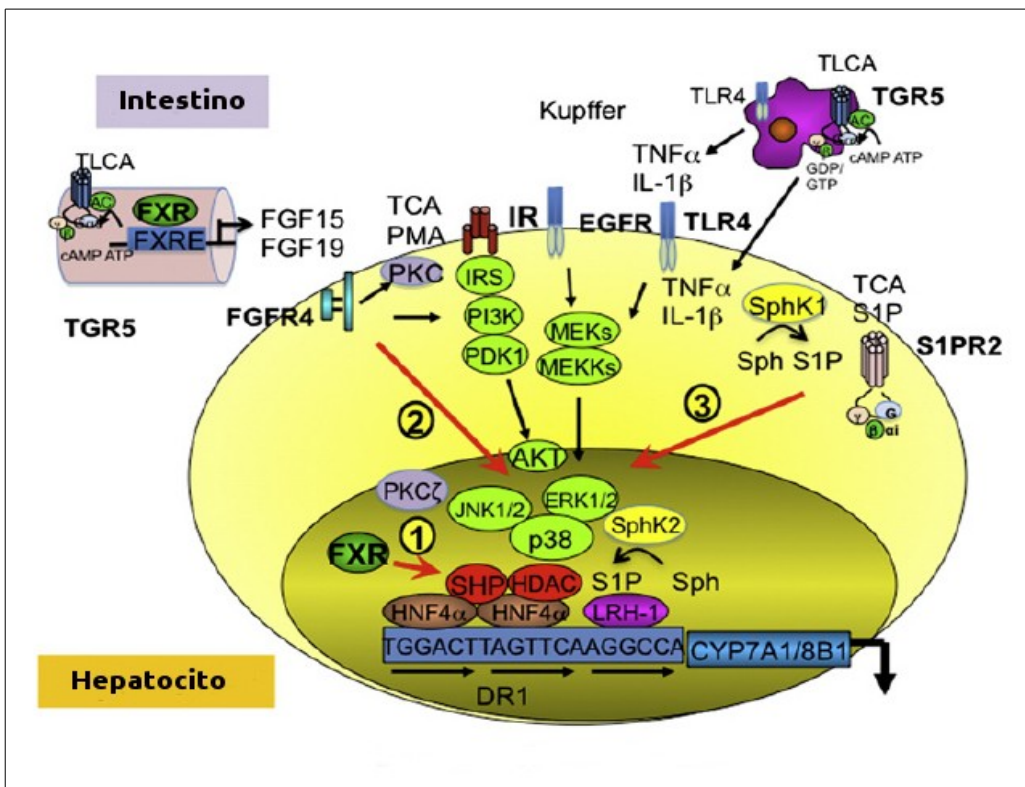


Figura 9. Vías de síntesis de ácidos biliares. Tomado de (43)

El metabolismo hepático del colesterol puede verse afectado en sujetos con CBP, hay muchos factores de origen hepático que se asocian con la captación, síntesis y secreción del colesterol y con la síntesis y secreción de ácidos biliares. La proteína reguladora de esteroides (SREBP) 2, es fundamental en el metabolismo del colesterol: promueve la

INTRODUCCIÓN

expresión del LDLR y de la hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, el primero interviene en la captación plasmática del colesterol y la segunda es la enzima reguladora de la síntesis del colesterol. La SREBP-2 también promueve la *Niemann-Pick C1 like 1* (NPC1L1) que está involucrada en la captación de esteroides de la bilis. Por otro lado las proteínas ABCG5/ABCG8 funcionan como heterodímeros y son responsables del eflujo de colesterol desde el hepatocito, estas proteínas junto a la NPC1L1 también están localizadas en la membrana canalicular del hígado, la expresión de sus RNAs se incrementa con una dieta rica en colesterol probablemente por la vía del receptor X hepático α (LXR α), mientras que la expresión del RNA de SREBP-2 está suprimida por LXR α y el incremento de colesterol (44). LXR α estimula la expresión de FXR y este estimula la expresión de la bomba exportadora de ácidos biliares desde los hepatocitos (BSEP/ABCB11). LXR α puede activar los *peroxisome proliferator-activated receptor α* (PPAR α) y la expresión de *multidrug resistance 3* (MDR3/ABCB4) es a su vez estimulada por PPAR α y por FXR (44).

En sujetos con CBP hay un marcado incremento de la expresión de MDR3 y sus niveles estaban negativamente correlacionados con los niveles séricos de gammaglutamil transpeptidasa (GGT) e IgM, por tanto la regulación al alza de MDR3 puede estar asociado con la actividad y progresión en sujetos con CBP. Se han descrito otras alteraciones en la síntesis de AB en sujetos con CBP (44). Figura 10.

La activación de FXR también afecta el metabolismo de los hidratos de carbono, el efecto de un agonista (GW4064) de FXR disminuye las cifras de glucemia en ayunas, mejora la sensibilidad a insulina en ratones diabéticos y obesos, mientras que ratones con deficiencia de FXR tienen insulinoresistencia y hiperglucemia (43).

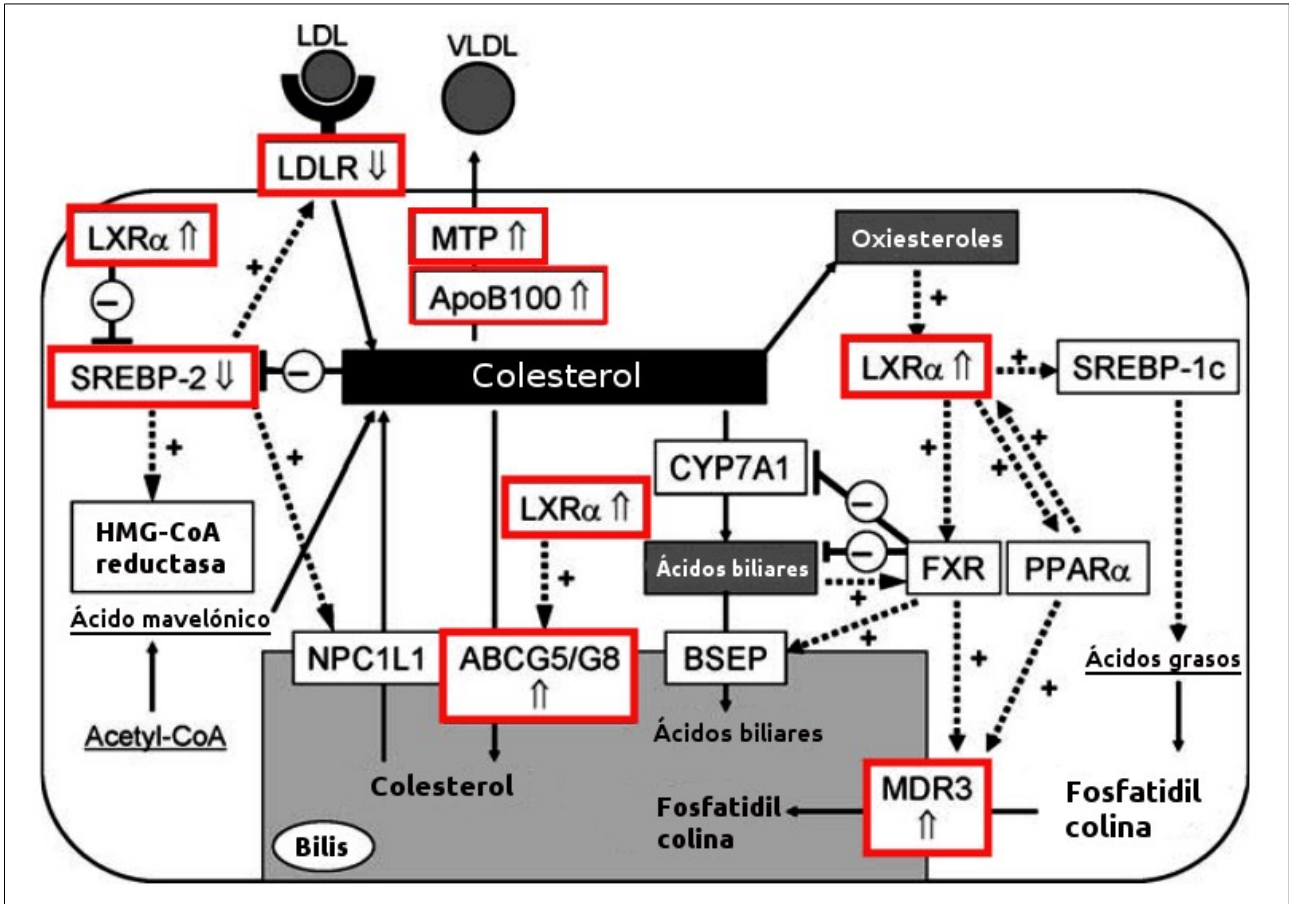


Figura 10. Alteraciones en los factores asociados al metabolismo del colesterol. Las flechas (↑ ↓) representan diferencias significativas en los niveles de expresión entre sujetos con CBP y controles normales. Tomado de (44).

Hipercolesterolemias primarias

Las hipercolesterolemias genéticas son un grupo muy heterogéneo de trastornos del metabolismo lipídico caracterizados por una elevación en la concentración sanguínea de colesterol total de causa hereditaria. El diagnóstico de este tipo de hiperlipemias requiere la exclusión de las principales causas secundarias de hiperlipemias y en muchas ocasiones demostrar un componente familiar (45).

El diagnóstico de una hipercolesterolemia genética no implica que todo el fenotipo sea de origen genético, ya que muchas hipercolesterolemias genéticas tienen un componente genético poligénico, complejo, que interactúa con múltiples factores ambientales que pueden modular la concentración final del colesterol de los pacientes

INTRODUCCIÓN

(45). Por este motivo, la expresividad y penetrancia de las hipercolesterolemias genéticas es muy variable entre sujetos, incluso entre aquellos miembros de una unidad familiar que comparten un determinado defecto genético concreto. La mejor denominación sería “hipercolesterolemias primarias con importante componente genético” e incluyen a aquellos trastornos del metabolismo lipídico no asociados a otras enfermedades metabólicas o al consumo de determinados fármacos o tóxicos (45).

A efectos prácticos, consideramos hipercolesterolemia de origen genético cuando la concentración sanguínea de colesterol total o cLDL son superiores al percentil 90 de la población, ajustado por edad y sexo en ausencia de una causa secundaria (45).

De acuerdo a su forma de transmisión familiar las hiperlipemias genéticas se clasifican en monogénicas dominantes, monogénicas recesivas, poligénicas y complejas (Tabla 2). Las más frecuentes son las hipercolesterolemias poligénicas caracterizadas por cifras de cLDL moderadamente elevado, habitualmente entre 190-220 mg/dL, concentraciones normales de triglicéridos, y un patrón familiar variable, aunque suele encontrarse algún otro familiar afecto. Cuando existen varios familiares afectados el diagnóstico diferencial entre la hipercolesterolemia familiar y la hipercolesterolemia poligénica es difícil y posiblemente gran parte de las hipercolesterolemias con patrón autosómico dominante en las que no encontramos causa genética, se traten en realidad de formas poligénicas (45).

Las hipercolesterolemias genéticas también se clasifican de acuerdo a su mecanismo patogénico que se resume en la tabla 3, y como podemos observar existen causas de hipercolesterolemia asociadas a alteraciones en todos los mecanismos que controlan la concentración de colesterol en humanos. Ambas clasificaciones son complementarias y nos ayudan a un mejor diagnóstico y comprensión de este grupo de hiperlipemias (45).

INTRODUCCIÓN

Tabla 2. Causas genéticas de los fenotipos hipercolesterolemia familiar

Defectos moleculares en la vía del receptor de LDL
• Mutaciones en el gen del receptor de LDL (AD)
• Mutaciones en el gen de la apolipoproteína B100 (AD)
• Mutaciones en el gen de la proteína PCSK9 (con ganancia de función) (AD)
• Mutaciones en el gen de la proteína 1 accesoria del receptor de LDL (LDLRAP1) (AR)
• Mutaciones en las proteínas ABCG5/ABCG8 (AR)
Hipercolesterolemia poligénica: genes que contribuyen <i>APOE</i> , <i>APOB</i> , <i>LDLR</i> , <i>PCSK9</i> , <i>Lp(a)</i>
Transmisión familiar compleja: Hiperlipemia familiar combinada
Otras causas: hiperLp(a), causas monogénicas, epigenéticas, etc (aún no descritas)

AD: Autosómica dominante

AR: Autosómica recesiva

Tabla 3. Clasificación de las hipercolesterolemias genéticas de acuerdo a su mecanismo de producción. Tomado de (45).

Mecanismo de producción	Enfermedad
Aumento de la absorción intestinal	Sitosterolemia
Aumento de la producción hepática	Hiperlipemia Familiar Combinada
	Hiperlipoproteinemia(a)
	Deficiencia de de lipasa ácida lisosomal/ Enfermedad por depósitos de ésteres de colesterol
Defectos en la captación hepática de partículas remanentes	Disbetalipoproteinemia
Defectos en la captación hepática de partículas LDL	
Defectos ligando	ApoB 100 defectuosa familiar
Defectos en receptor LDL	Hipercolesterolemia familiar
	FH3
	Hipercolesterolemia autosómica recesiva
Defectos eliminación de colesterol bilis	Deficiencia de colesterol-7-alpha-hidroxilasa

FH3: Hipercolesterolemia familiar 3

El diagnóstico preciso y precoz de este grupo de hipercolesterolemias genéticas es importante porque en muchos casos tienen una estrategia terapéutica propia, se facilita la búsqueda de nuevos casos entre familiares, el conocimiento del diagnóstico del origen

INTRODUCCIÓN

genético de su enfermedad favorece una mayor adhesión al tratamiento y resulta coste-efectivo tratar precozmente determinadas hiperlipemias genéticas (45).

Por otra parte, el fenotipo de hipercolesterolemia severa hace referencia a todos los sujetos con cLDL ≥ 190 mg/dL, independientemente de la causa, sin embargo, el término hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD) se reserva para sujetos con mutaciones en los genes que controlan los niveles de cLDL (42).

Los sujetos con HAD manifiestan una alteración en el aclaramiento del cLDL con importante elevación de esta lipoproteína y desarrollo prematuro de enfermedad cardiovascular (42). Aproximadamente entre 14-35 millones de personas en el mundo tienen un fenotipo de hipercolesterolemia severa y el riesgo cardiovascular está más ligado a los niveles de cLDL que al trastorno genético subyacente (42).

La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno monogénico, autosómico dominante, causado por alteraciones en el gen del LDLR. Su prevalencia es variable, la frecuencia de heterocigotos en Alemania es alrededor de 1 por cada 500 personas, sin embargo daneses y noruegos tienen prevalencias más altas en el orden de 1 por cada 200-300 personas. Hay poblaciones con prevalencias más altas por efecto fundador como los cristianos libaneses, los canadienses de origen francés, poblaciones sudafricanas, judíos Ashkenazi e indios asiáticos (42). Las variantes homocigotas son más infrecuentes, con tasas de alrededor de 1 por cada 1000000 habitantes (46,47).

Las mutaciones en el gen del LDLR causan el 85-90% de los fenotipos de hipercolesterolemia familiar y se han documentado más de 1700 variantes del gen del LDLR: mutaciones exónicas, mutaciones en zonas intrónicas, variaciones en zonas del promotor del gen, deleciones y reordenamientos (46). Clínicamente se presenta como una hipercolesterolemia con cifras de cLDL desde 190-450 mg/dL o incluso cifras más

INTRODUCCIÓN

altas en casos de homocigotos, desarrollo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica precoz, presencia de xantomas tendinosos siendo el más frecuente el localizado en el tendón de Aquiles y familiares de primer grado con hipercolesterolemia, enfermedad coronaria precoz y/o xantomas tendinosos (42,47,48). La presencia de estos xantomas se asocia con los factores de riesgo cardiovascular y mayor enfermedad coronaria, indicando que su detección marca un grupo de sujetos necesitados de una terapia hipolipemiente más agresiva (49). En esta enfermedad la vida media del cLDL aumenta desde los 1,5 días a los 3-4 días en heterocigotos y en homocigotos asciende a los 6 días (47). Alrededor del 5% de los infartos cardiacos en menores de 60 años y el 20% en menores de 45 años pueden ser atribuidos a la hipercolesterolemia familiar (46), los hombres con hipercolesterolemia familiar tienen un 50% de probabilidad de tener una cardiopatía isquémica a los 50 años y las mujeres un 30% de probabilidad a la edad de 60 años (46). Se han elaborado 3 grupos de herramientas clínicas diagnósticas: Programa US MedPed, el Registro Simon Broome en Reino Unido y los criterios de la red de clínicas de lípidos holandesas (46). El diagnóstico definitivo se realiza con la identificación de una mutación funcional en el gen del LDLR (50). Aunque el diagnóstico genético es inequívoco para la HF, no siempre es posible identificar la mutación causal en el gen LDLR por diversos motivos. Se recomienda el diagnóstico genético en las siguientes situaciones (45):

- Poblaciones en las que pocas mutaciones en el gen LDLR son responsables de la mayoría de casos HF, como en el caso de los canadienses franceses, libaneses cristianos, sudafricanos, o judíos Ashkenazi.
- Poblaciones en las que la mayoría de las mutaciones se conocen y se han desarrollado herramientas para el diagnóstico genético rápido. Este es el caso de España, donde se

INTRODUCCIÓN

han identificado las mutaciones responsables de HF en nuestra población, y se ha desarrollado una plataforma de diagnóstico basada en DNA, comercialmente disponible, denominada LIPOCHIP® (51)

- Sujetos con diagnósticos dudosos pertenecientes a familias en las que se ha identificado la mutación responsable.

El defecto familiar de apolipoproteína B (DFB) es menos frecuente que la hipercolesterolemia familiar como causa de hipercolesterolemia autosómica dominante, entre el 2-5% (52,53). Se debe a mutaciones en el gen de la apolipoproteína B100, especialmente la mutación Arg3500→Gln (R3500Q) lo que dificulta o imposibilita la captura e internalización de las partículas LDL por medio del LDLR (45). Producen un fenotipo similar a la hipercolesterolemia familiar pero con una elevación menos significativa del cLDL (48), presencia de xantomas tendinosos menos frecuente y también existe una menor incidencia de enfermedad coronaria, aunque los sujetos homocigotos DFB tienen cifras de cLDL similares a los heterocigotos HF (45).

En España se ha realizado un *screening* de mutaciones en el gen de la apolipoproteína B, utilizando el Registro Español de Hipercolesterolemia Familiar y distribuyendo los sujetos de forma proporcional entre las diferentes regiones de España, encontrando una baja frecuencia de mutaciones (R3500Q) entre los 408 sujetos estudiados y concluyendo que es una causa infrecuente de hipercolesterolemia severa (48). Se ha identificado otras mutaciones en la misma posición, en la que la arginina es sustituida por triptófano, R3500W, en pacientes de origen chino o malayo, además de otras como la R3531C, R3480W, T3492I y H3543Y. Estas mutaciones en la apo B parece que alteran la estructura tridimensional del dominio de unión, y por tanto, las partículas LDL con estas variantes de apo B tienen una afinidad por el LDLR reducida, acumulándose en el plasma (45).

INTRODUCCIÓN

En el año 1999, se identificó un tercer locus causante de hipercolesterolemia autosómica dominante en la región cromosómica 1p34.1-p32 en diversas familias de Francia y España. El gen en este locus responsable de la hipercolesterolemia es el que codifica la proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9, PCSK9, involucrada en la regulación post-transcripcional de los LDLR. PCSK9 es producida mayoritariamente en el hígado y se une al LDLR en la superficie del hepatocito (45).

La proteína PCSK9 se une al LDLR y favorece la degradación lisosomal de este por lo que habría una menor cantidad de LDLR afectándose el aclaramiento plasmático de las partículas de LDL. Las mutaciones con ganancia de función generan una elevación del cLDL y sujetos con mutaciones con pérdida de función tienen niveles bajos de cLDL y reducción del riesgo coronario (54). Mutaciones en esta proteína con ganancia de función causan alrededor del 5% de los fenotipos de hipercolesterolemias familiares aunque en otras publicaciones reportan menos del 1% (42). Se han descrito más de 20 mutaciones en PCSK9 (46,48) y se conoce como hipercolesterolemia familiar 3 (HF3). El fenotipo lipídico de esta forma de hipercolesterolemia es muy parecido a la HF clásica y al defecto familiar de apoB. El diagnóstico definitivo solamente lo proporciona el estudio genético.

Dadas las semejanzas clínicas y de manejo terapéutico entre estos tres tipos de hipercolesterolemias: HF, defecto familiar de apoB y FH3, muchos autores suelen englobarlas bajo el término de HF (45).

Las mutaciones del gen de la apolipoproteína B100, causante del defecto familiar de apoB, y de la proteína PCSK9 pueden ser detectadas utilizando *microarrays* (55).

Las formas autosómicas recesivas de hipercolesterolemia familiar (hipercolesterolemias autosómicas recesivas, HAR) son raras y clínicamente se asemejan a la

INTRODUCCIÓN

hipercolesterolemia familiar homocigota, entre ellas tenemos las mutaciones en el gen de la proteína 1 adaptadora del receptor de LDL (LDLRAP1), dicha proteína favorece la internalización del complejo LDL-LDLR dentro de las células hepáticas (56). Esta proteína interacciona con la cola citoplásmica del LDLR, fosfolípidos, y dos componentes de la maquinaria endocítica de clatrina, para promover la agrupación de los receptores y la internalización de las partículas LDL. El fenotipo clínico de la HAR es más benigno que el de los homocigotos HF, siendo el riesgo de enfermedad coronaria 9 veces menor (45).

La sitosterolemia es otra patología en la cual se produce aumento de los niveles plasmáticos de cLDL, xantomas tendinosos, desarrollo precoz de enfermedad coronaria y elevación plasmática de los esteroides vegetales (48). Se debe a mutaciones en los genes de dos proteínas transportadoras de los esteroides a nivel intestinal, ABCG5 y ABCG8. El defecto genético es autosómico recesivo en ambos casos (48,57).

La concentración plasmática de esteroides vegetales y colestanol es alrededor del 0,5% del colesterol total en sujetos normales y se debe a diferencias en la absorción intestinal de esteroides, la cual es mediada por varios transportadores localizados en el borde de la membrana intestinal: NPC1L1 permite la captación de esteroides y ABCG5 y ABCG8 devuelven los esteroides a la luz intestinal. El colesterol es fundamentalmente incorporado a los quilomicrones y poca cantidad es eliminada a través de ABCG5/ABCG8. Éstos últimos receptores también están localizados en la membrana canalicular del hepatocito e intervienen en el eflujo del colesterol y otros esteroides a la bilis (58).

La deficiencia de la enzima lipasa ácida lisosomal produce la enfermedad conocida como Enfermedad por Depósitos de Ésteres de Colesterol (CESD en inglés) es una enfermedad no frecuente, en torno a un caso por 40.000 habitantes, posiblemente

INTRODUCCIÓN

infradiagnosticada, y que produce una acumulación de ésteres de colesterol en diferentes órganos del cuerpo, especialmente en hígado. Clínicamente se presenta como una hiperlipemia mixta en una paciente joven, sin historia familiar de hiperlipemia, con hepato-esplenomegalia y con elevación de enzimas hepáticas. La ecografía suele mostrar esteatosis hepática, pero el diagnóstico suele sospecharse al encontrar una esteatosis microvesicular en la biopsia hepática. El diagnóstico definitivo se realiza midiendo la actividad de lipasa ácida lisosomal que se encuentra baja, o bien en presencia de mutaciones funcionales en el gen que codifica esta enzima, LIPA (45). La evolución de estos enfermos es hacia la enfermedad hepática crónica, cirrosis hepática, y mayor incidencia de enfermedad ateromatosa (45).

En la deficiencia de colesterol-7-alfa-hidroxilasa se ha descrito que las mutaciones en el gen CYP7A1, que codifica la enzima colesterol-7-alfa-hidroxilasa, se asocian con hipercolesterolemia tanto en heterocigosidad como en homocigosidad, por lo que se considera una enfermedad autonómica codominante. La enzima colesterol-7-alfa-hidroxilasa, es la que controla la tasa de conversión del colesterol en ácidos biliares. La deficiencia de CYP7A1 causaría una disminución en la producción de ácidos biliares y una acumulación de colesterol en el hígado, produciendo una disminución de la expresión de los LDLR, y por tanto, un aumento de la concentración de cLDL plasmático. En estos pacientes, como el contenido hepático de colesterol está aumentado, las estatinas no tienen el efecto esperado de inducir la expresión de LDLR (45).

La hiperlipemia familiar combinada (HFC), es la forma más frecuente de hiperlipemia familiar con una prevalencia calculada del 1 al 5% en población general y hasta en el 20% de los sujetos con enfermedad coronaria prematura. Se presenta como una hiperlipemia mixta de patrón familiar, no necesariamente dominante y con importantes variaciones en

INTRODUCCIÓN

el perfil lipídico, especialmente en los triglicéridos, a lo largo de la vida. Estas variaciones muchas veces están en relación con modificaciones en el consumo de alcohol, en cambios dietéticos o en la presencia de otras enfermedades concomitantes. Los factores genéticos también modifican el fenotipo de esta enfermedad (45). Se ha demostrado que los sujetos portadores del alelo -514T en el gen de la lipasa hepática tienen concentraciones más elevadas de cHDL en población normolipémica sin embargo en sujetos con HFC este alelo no influye sobre los niveles lipídicos y además modifica la respuesta terapéutica a estatinas y fibratos (59).

La HFC está muy ligada con la obesidad y la resistencia a la insulina por lo que los antecedentes personales o familiares de diabetes, hipertensión arterial, y concentraciones de cHDL bajas son muy comunes (45,60).

No existe una prueba diagnóstica definitiva en la HFC, pero la presencia de hiperlipemia mixta, presentación familiar, ausencia de xantomas y apolipoproteína (apo) B superior a 120 mg/dL son los criterios habitualmente utilizados en su diagnóstico (45,60).

La disbetalipoproteinemia familiar (DF), en sus formas más habituales se trata de una hiperlipemia mixta grave (hipelipoproteïnemia tipo III de la clasificación de Fredrickson), sin historia familiar de hiperlipemia y que no se manifiesta hasta la edad adulta a menudo asociada con otros trastornos como diabetes, hipertensión arterial, hipotiroidismo o sobrepeso (45,61). Algunos de estos sujetos presentan xantomas cutáneos eruptivos o planos en las palmas de las manos. La DF tiene una alta incidencia de enfermedad cardiovascular, tanto coronaria como en otras localizaciones a partir de la quinta década de la vida. Las concentraciones de apo B no suelen estar elevadas y puede servir de diagnóstico diferencial con la HFC (45).

Con la sospecha clínica de DF es conveniente la cuantificación de lípidos en

INTRODUCCIÓN

quilomicrones, VLDL e IDL separados por ultracentrifugación, el cálculo del cociente cVLDL/TG totales (≥ 0.3 mg/dL en la DF) y la determinación del genotipo de apo E. La causa genética de la DF es un defecto en el gen de apo E, que da lugar a una apo E defectuosa que no se une correctamente al LDLR y a la proteína relacionada con el receptor LDL (LRP) y se produce una acumulación de VLDL e IDL en el plasma. Existen tres isoformas de apoE principales en la población: apoE2, apoE3 y apoE4. Los sujetos con DF presentan frecuentemente el genotipo E2/E2. Además de estas isoformas de apo E frecuentes, existen otras variantes raras de apo E que también se asocian con DF, ya que dan lugar a apolipoproteínas E defectuosas. Entre estas variantes raras, una de ellas, la apoE Arg136Ser, es relativamente frecuente en población española con hiperlipoproteinemia tipo III. Por ello, para realizar el diagnóstico genético de esta hiperlipemia, es recomendable utilizar técnicas de biología molecular que detecten ésta y otras variantes raras, y no las que detectan únicamente los cambios que dan lugar a las isoformas frecuentes E2, E3 y E4 (cambios en los aminoácidos 112 y 158) (45).

Finalmente queremos hacer referencia a la Lp(a). Esta lipoproteína fue descrita inicialmente por Berg en 1963, está compuesta por una partícula de LDL y una lipoproteína (a) unida covalentemente a la apoB por, al menos dos puentes disulfuro. La Lp(a) plasmática muestra niveles muy variables dentro de una misma población y entre poblaciones. El mayor determinante de la cantidad plasmática de Lp(a) es su tasa de formación más que su catabolismo. Adicionalmente, el tamaño de las diferentes isoformas de Lp(a) está inversamente relacionado con la concentración plasmática de esta lipoproteína debido a un incremento del tiempo de retención de las isoformas de apo (a) más grandes en el retículo endoplasmático, lo cual favorece su degradación interna dentro del hepatocito. La Lp(a) se hereda con un patrón autosómico dominante

INTRODUCCIÓN

por un único gen dominante, por tanto un simple gen determina de forma significativa los niveles de Lp(a). Se ha demostrado que diversas formas de hipercolesterolemias autosómicas dominantes son debidas a hiperLp(a) y la presencia de este trastorno no está claramente ligado al inicio precoz de enfermedad coronaria (62).

A pesar de todo lo anteriormente descrito, entre un 30-50% de los sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia familiar no tienen mutaciones en el LDLR, por tanto, no es correcto suponer que ante un fenotipo determinado corresponde con el genotipo esperado. La tabla 2 y 3 (ver antes) y en la figura 11 se muestran los diferentes genotipos conocidos causantes de los fenotipos de hipercolesterolemia familiar (48).

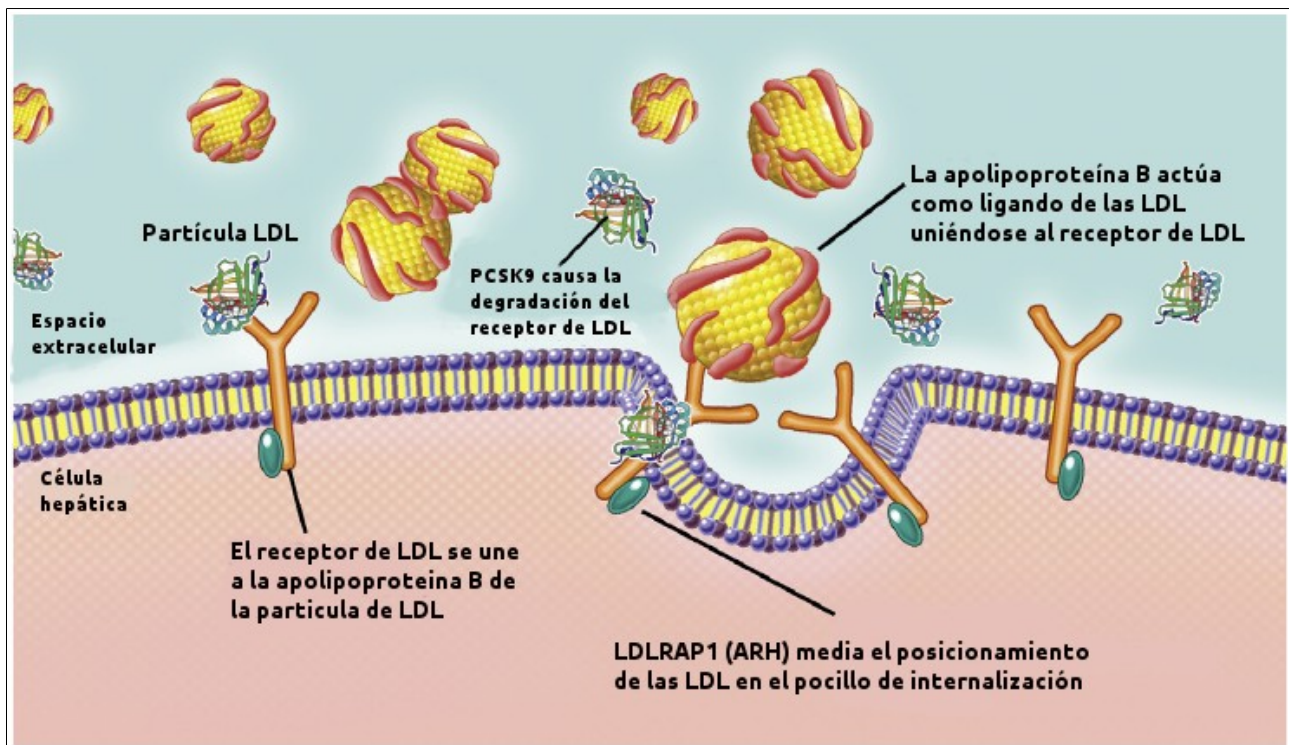


Figura 11. Principales causas moleculares de hipercolesterolemia familiar. Tomado de (42).

Arteriosclerosis y ecografía carotídea

La arteriosclerosis es un fenómeno que tiene lugar en el espacio subendotelial (íntima) de las arterias de mediano tamaño en zonas en las cuales hay alteraciones del flujo sanguíneo (figura 12) y se desencadena por la disfunción endotelial y retención de

INTRODUCCIÓN

lipoproteínas. Con el tiempo este proceso genera inflamación, destrucción intimal, trombosis arterial e isquemia tisular. Durante todo este proceso intervienen varios actores celulares, como las células endoteliales, sistema monocito-macrófago, células musculares lisas y los fibroblastos de la adventicia (63).

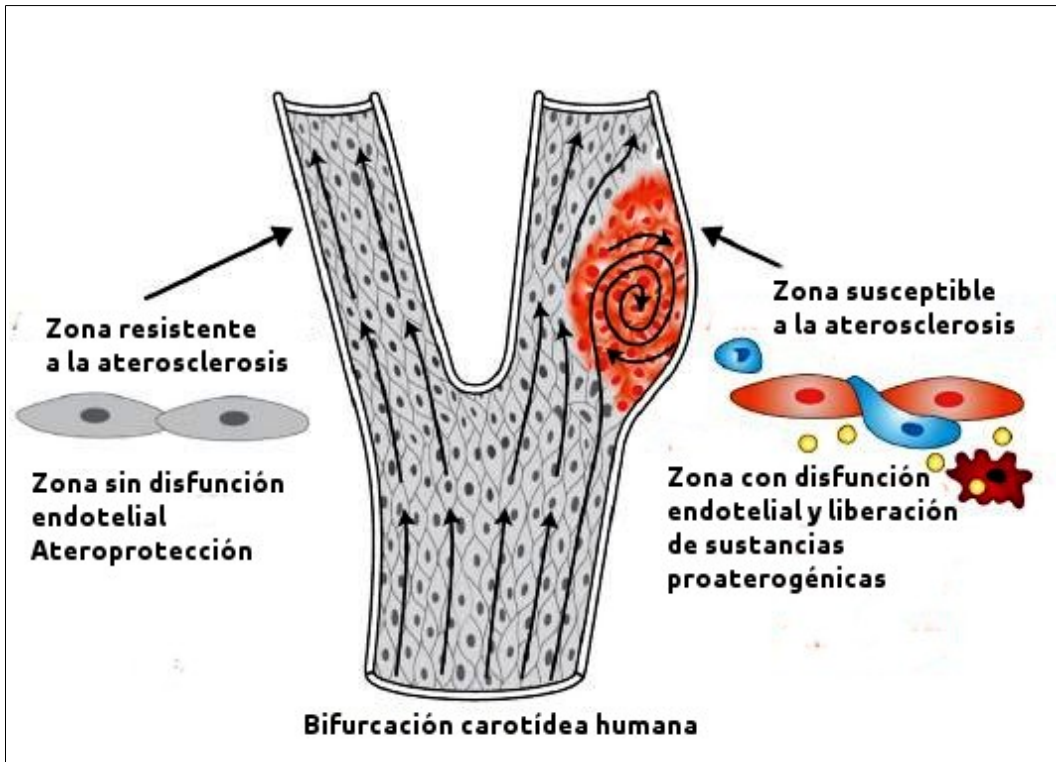


Figura 12. Esquema del desarrollo de arteriosclerosis en la bifurcación carotídea humana. . Tomado de (63).

Se ha postulado una patogenia autoinmune en la arteriosclerosis, el complejo LDL oxidada/ β 2-glicoproteína I es inflamatoria (inmunidad innata) e inmunogénico (inmunidad adaptativa) y puede ser el *link* desde el proceso inflamatorio crónico propio de la arteriosclerosis y la respuesta de autoAc que se puede encontrar en los estadios finales de la arteriosclerosis y cuando estos autoAc están presentes en sujetos con LES o AR tienen un desarrollo de arteriosclerosis más importante que aquellos sujetos sin los autoAc, de modo, que es cuestión de debate si la arteriosclerosis es un proceso

INTRODUCCIÓN

inflamatorio crónico: autoinmune, autoinflamatorio o ambos (64).

La ecografía carotídea de alta resolución permite la valoración de la arteriosclerosis carotídea a través de la medición del grosor íntima-media (GIM) carotídeo que se correlaciona estrechamente con los factores de riesgo cardiovasculares y, a pesar, de que se viene utilizando desde finales de la década de los años 80' (65), aún es una medida útil para la valoración de la arteriosclerosis a este nivel (66). Incrementos en el grosor del GIM se asocia con incrementos del riesgo de infarto cardiaco y cerebral en adultos (67,68).

La medición del GIM carotídeo se basa en que la arteriosclerosis es una enfermedad difusa del árbol arterial y que la carótida extracraneal, especialmente carótida común y carótida interna, es un territorio accesible y representativo de las arterias donde asienta la arteriosclerosis (69).

El concepto de la medición del GIM es que el engrosamiento de la pared de la carótida se corresponde con una fase precoz de la arteriosclerosis y por ello puede ser utilizado para ver la carga de arteriosclerosis de un individuo. El aumento del GIM puede ser debido a un engrosamiento de la íntima, de la media o de ambas. En una arteria de mediano calibre normal el tamaño de la media es mayor que el de la capa íntima, por lo que en el GIM representa preferentemente la capa media, muy especialmente si la arteria es muscular como las arterias femorales. Sin embargo, en las fases precoces de la arteriosclerosis se produce preferentemente un engrosamiento subintimal y la afectación macroscópica de la media es más posterior. Las carótidas son arterias elásticas o de conducción, como la aorta o subclavias, cuya pared es relativamente delgada en proporción con su diámetro y su capa media contiene sobretodo fibras elásticas y menor proporción músculo liso, en contraste con las arterias musculares o de

INTRODUCCIÓN

distribución, como branquial, radial, o femorales cuya capa media contiene muchas más fibras de músculo liso que elástico y tienen mayor capacidad de vasodilatación y vasoconstricción, para ajustar el volumen de sangre a las necesidades de la estructura que irrigan. Por este motivo, al ser las carótidas unas arterias elásticas con escasas fibras musculares, el GIM carotídeo expresa predominantemente el engrosamiento subintimal (69).

El espacio subintimal, componente importante en el GIM carotídeo, tiende a aumentar con la edad, especialmente en las zonas de mayor estrés hemodinámico como la bifurcaciones. Este engrosamiento se debe preferentemente a un aumento de tejido conectivo no ateroscleroso y explica que el GIM aumente con la edad aún en ausencia de factores de riesgo cardiovasculares o de lesiones de arteriosclerosis en otros territorios vasculares. Por este motivo la medición del GIM debe ajustarse por edad y, probablemente, por cifras de presión arterial cuando sea utilizado como sustituto de arteriosclerosis. Sin embargo, cuando el GIM se encuentra por encima de ciertos límites, posiblemente por encima de 1 mm, entonces lo más probable es que esté reflejando cambios debidos a la arteriosclerosis. Como podemos comprobar, el GIM carotídeo no es un factor de riesgo en sí mismo, más bien nos informa de la repercusión vascular del conjunto de los factores de riesgo (conocidos y desconocidos) en un determinado individuo, lo que supone una información complementaria de gran valor clínico. Además, la medición ecográfica del GIM nos informa de la arteriosclerosis vascular en todas sus fases desde el engrosamiento focal subintimal a las diferentes fases de la arteriosclerosis incluidas las placas avanzadas. Incluso es capaz de identificar la composición de las placas debido a la diferente ecogenicidad del material lipídico, fibrótico o contenido en calcio de las lesiones. Esto supone una gran ventaja con

INTRODUCCIÓN

respecto a otras técnicas como el doppler, la ergometría o la angiografía que son útiles en fases avanzadas de la arteriosclerosis, ya que habitualmente son positivas cuando existe un compromiso en flujo arterial con estenosis superiores al 50% (69).

La medición del GIM tiene diversas ventajas para la valoración de la arteriosclerosis carotídea, en primer lugar se puede realizar sin efectos adversos para el sujeto, es de relativamente bajo coste, ofrece mejor visualización de la pared arterial que otras técnicas de imagen y las imágenes obtenidas tienen buena correlación con las exploraciones microscópicas de las arterias (66). La edad y la tensión arterial son los mayores determinantes del GIM en la población general, lo cual es consistente con el hecho de que la arteriosclerosis progresa con la edad y la hipertensión arterial (66). Otros factores proaterogénicos como el colesterol total, el cLDL, la insulinoresistencia, la hiperglucemia en ayunas se correlacionan con el incremento del GIM (66). Aunque los estudios difieren en el punto de corte del GIM para considerar alto riesgo cardiovascular, el riesgo absoluto anual de enfermedad cardiovascular varía desde el 1,6-2,3% con el incremento del GIM. Además se ha demostrado un incremento de la incidencia de enfermedad cardiovascular en la población general con incrementos del GIM y la presencia de placas de ateroma (66). No obstante, su utilidad clínica añadiendo poder predictivo más allá de los factores de riesgo tradicionales identificados por el Framingham Risk Score es cuestionable por lo que su uso en población general como método de screening de enfermedad cardiovascular no se recomienda debido a que el valor añadido es muy pequeño (67).

No existe un protocolo universalmente aceptado para la medición del GIM carotídeo, lo que dificulta enormemente la comparación de resultados entre estudios. Por ello es imprescindible, con independencia del protocolo utilizado, la consistencia y

reproducibilidad dentro de cada centro y estudio. Las mediciones pueden realizarse en diferentes zonas carotídeas y tanto en la pared proximal como distal; pueden expresarse como valores medios de GIM o como valores máximos que a su vez pueden incluir o no la medición de placas. Por tanto, a la hora de valorar un GIM carotídeo es importante conocer el protocolo para poder hacer una interpretación correcta de los resultados (69). Muchos estudios se han limitado al GIM de carótida común, debido a que es sencillo, rápido y es el segmento carotídeo más consistentemente reproducible y su medición puede hacerse de forma automatizada. Además, como hemos señalado anteriormente, esta determinación puede obtenerse en casi la totalidad de los sujetos. Sin embargo, limitar la exploración a la carótida común tiene inconvenientes, en ocasiones importantes ya que: a) las placas de ateroma aparecen más frecuentemente en el bulbo carotídeo y carótida interna que en carótida común, donde son raras; b) los factores de riesgo clásicos y el riesgo coronario se relacionan mejor con las lesiones de carótida interna que con las de carótida común, y c) los estudios de intervención que han utilizado el GIM carotídeo como parámetro de valoración principal dieron resultados positivos cuando midieron carótida interna, pero hubiesen sido negativos si se hubiesen limitado a la carótida común. Por este motivo la medición de bulbo carotídeo y carótida interna es conveniente aunque sea más difícil de visualizar, tenga mayor variabilidad y no sea posible en un porcentaje alto de sujetos (69).

El protocolo más frecuentemente utilizado en la actualidad incluye la medición en modo B del GIM en tres segmentos carotídeos en ambos lados coincidiendo con el complejo QRS del registro electrocardiográfico simultáneo (Figura 13). Dichos segmentos se corresponden con el centímetro distal de carótida común antes de la dilatación carotídea, el bulbo completo y un centímetro de carótida interna desde la bifurcación

INTRODUCCIÓN

(69). Aunque en algunos estudios se ha estudiado el GIM en las paredes proximal y distal, las mediciones de la pared proximal debido a condicionantes técnicos son menos fiables que las mediciones de la pared posterior. La medición de la pared anterior tiende a minusvalorar el grosor histológico real de la carótida común en torno a un 20%, cosa que no ocurre con la pared posterior con la que existe muy buena correlación entre los datos ecográficos e histológicos (69). Por este motivo, las mediciones de la pared posterior son las que se consideran más adecuadas en la mayor parte de estudios en la actualidad. Las mediciones incluyen la medida del GIM máxima en cada uno de los 6 segmentos, la media de las GIM máximas, las medias de GIM en cada segmento que se obtienen bien de forma automática o de la medición en 3 o 4 puntos equidistantes en todos los segmentos, obteniéndose el GIM medio de cada segmento y el GIM medio del sujeto, en la figura 13 se muestra un esquema de los segmentos carotídeos estudiados en el examen ecográfico. La posibilidad de realizar varias mediciones independientes aumenta la consistencia del método (69). No todos los estudios han utilizado las mismas mediciones y aunque existe buena correlación entre ellas, el GIM máximo parece ser la medición con mayor poder predictivo cardiovascular. Junto a la medición del GIM, la exploración permite la identificación de placas. Se han utilizado varios criterios en la definición de placas: a) engrosamientos de la pared superiores al 50% de los segmentos adyacentes; b) engrosamientos focales $\geq 1,2$ mm 10; c) engrosamientos focales con protrusión > 1 mm en la luz carotídea; y 4) en muchos casos le definición de placa se ha basado en la presencia de engrosamientos focales que protruyen en la luz a juicio del investigador sin mediciones concretas en su definición (69).

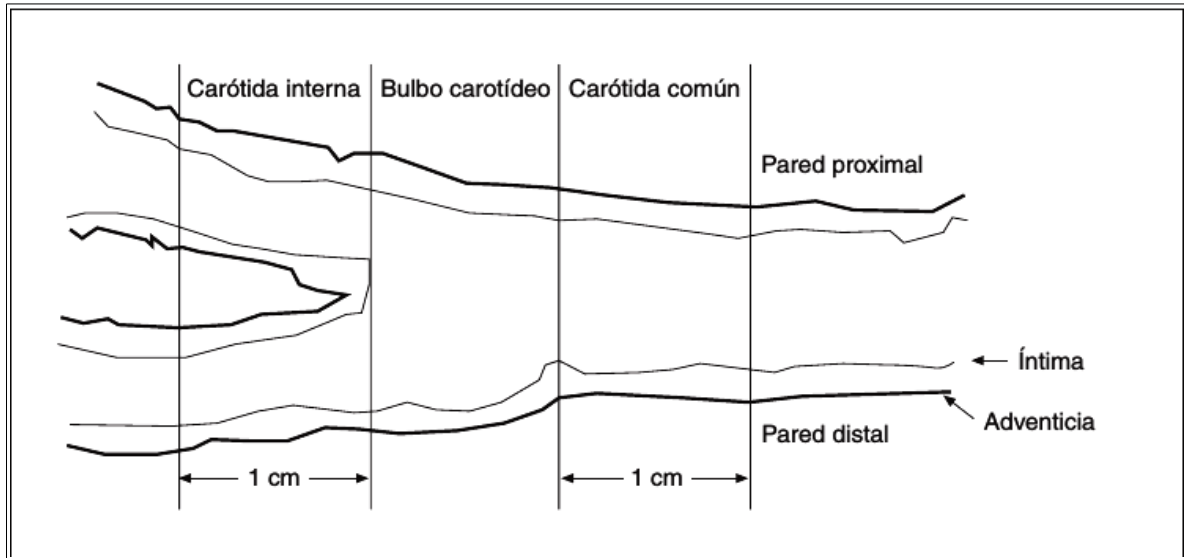


Figura 13. Esquema de los segmentos carotídeos estudiados en el examen ecográfico. Tomado de (69).

Hipótesis de trabajo

Nuestro grupo de investigación recientemente publicó un caso de CBP en una mujer de 43 años con niveles de colesterol total que ascendían a 1369 mg/dL y sin antecedentes de hipercolesterolemia. A pesar del tratamiento durante 3 meses con colestiramina y ácido ursodeoxicólico no se obtuvo mejoría de las cifras de colesterol total. Se encontraron niveles muy altos de esteroides no colesterol (fitosteroides, precursores del colesterol y precursores de AB), dicho incremento de esteroides se debía especialmente a colestanol y esteroides vegetales en cifras 10-30 veces superiores que en controles sanos, incluso después del tratamiento con ezetimiba. La relación desmosterol/colestanol y desmosterol/sitosterol, que son buenos medidores indirectos de la relación síntesis hepática/absorción intestinal de esteroides, estaba muy disminuida y la secuenciación de los genes de ABCG5/ABCG8 no demostró ninguna mutación funcional (58).

Las cifras de colesterol total en sujetos con CBP es casi independiente de los niveles de bilirrubina, lo cual indica que el ataque autoinmune contra el epitelio biliar induce defectos específicos en la excreción biliar y no sólo la simple destrucción de los conductos biliares en la triada portal. (58).

En el caso anteriormente descrito, no pudo demostrarse un defecto en la absorción intestinal de esteroides al no encontrar mutaciones funcionales en las proteínas transportadoras de esteroides a pesar del aumento plasmático de esteroides no colesterol, lo que hace suponer que en este caso con CBP se produjo una reducción significativa de la excreción biliar de esteroides probablemente por bloqueo en los transportadores ABCG5/ABCG8 en los conductos biliares por un mecanismo inmunológico no conocido (58).

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Por todo lo anterior, consideramos que en un porcentaje de sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia primaria, dicha hipercolesterolemia se produce por alteraciones de origen inmune en la eliminación biliar del colesterol.

OBJETIVOS

Objetivos

1. Determinar la prevalencia de los anticuerpos antinucleares, antimitocondriales y antimúsculo liso en sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia primaria sin mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E.
2. Determinar los niveles de pANCA en sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia primaria sin mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E y compararlos con el grupo control.
3. Comparar la proporción de autoanticuerpos en un grupo de sujetos con fenotipo hipercolesterolemia primaria sin mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E y en el grupo control.
4. Describir el fenotipo lipídico de los sujetos con autoinmunidad subclínica (sin enfermedad autoinmune).
5. Estudiar marcadores de inflamación subclínica medida por proteína C reactiva en sujetos con hiperlipemias primarias, en el contexto de autoinmunidad.
6. Estudiar la asociación entre autoanticuerpos y marcadores de inflamación y arteriosclerosis subclínica por ecografía carotídea.

Materiales y método

Selección de la muestra

Se estudiaron dos grupos de sujetos, todos del sexo femenino:

Grupo 1: sujetos con hipercolesterolemia primaria, grupo casos, sin mutaciones en el gen del LDL, de la apoB, PCSK9 y apoE.

Grupo 2: sujetos de población general, considerado grupo control.

En ambos grupos se determinaron varios autoAc relacionados con patologías autoinmunes de la vía biliar (ANA, AMA, ASMA, pANCA), además se realizaron ecografías carotídeas para la medición del GIM y estudios analíticos(ver más adelante).

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó la siguiente fórmula, siendo n igual a:

$$\left(\frac{Z\alpha \sqrt{2P(1-P)} + Z\beta \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}}{P_1 - P_2} \right)^2$$

Obteniéndose una n de 164 sujetos en cada grupo, donde:

n es el número de sujetos necesarios en cada uno de los grupos.

Z α es el valor z correspondiente al riesgo α y es 1,960.

Z β es el valor z correspondiente al riesgo β y es 1,645.

P₁ es el valor de la proporción en el grupo de referencia o control, 1% de AMA positivos en población general, escogiendo este autoAc como base para el cálculo del tamaño de la muestra por ser el más infrecuente en la población general de todos los que se determinaron.

P₂ es el valor de la proporción en el grupo de estudio, 10%.

P es la media de las dos proporciones P₁ y P₂:

$$\frac{P_1 + P_2}{2}$$

MATERIALES Y MÉTODO

Criterios de inclusión (Grupo 1)

- Mujeres
- Hipercolesterolemias primarias sin mutaciones causales en el gen del LDLR, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E.
- cLDL \geq 190 mg/dL

Criterios de exclusión (Grupo 1)

- Casos con mutaciones en el gen del LDLR, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 o en el gen de la apolipoproteína E.
- Casos con familiares de primer grado con mutaciones en el gen del LDLR.
- Presencia de xantomas.
- Casos con obesidad (índice de masa corporal \geq 30), diabetes mellitus, síndrome nefrótico, tiroiditis o alteraciones en la hormona estimulante del tiroides (TSH), colestasis manifiesta, bilirrubina directa \geq 2 veces el valor de referencia del laboratorio, aclaramiento de creatinina $<$ 30.
- Triglicéridos \geq 400 mg/dL.

Criterios de inclusión (Grupo 2)

- Mujeres de población general

Estudios analíticos

Los análisis de laboratorio se realizaron en la Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet de acuerdo con los métodos estandarizados. Se extrajo una muestra de sangre tras, al menos, 10h de ayunas, sin tratamiento hipolipemiante en las últimas 5 semanas, y se determinaron las concentraciones de: colesterol total, cHDL, TG, apo A-I, apo B, Lp(a), HbA1c, glucosa, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato transaminasa (AST), ácido úrico, creatinina, GGT, fosfatasa alcalina, proteína C reactiva (PCR),

bilirrubina total y TSH. El cLDL se calculó utilizando la fórmula de Friedewald (70).

Determinación de mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E.

Las mutaciones en el gen del LDLR, en el gen de la apoB y en el gen de PCSK9 se realizó utilizando un *microarray* de ADN siguiendo la metodología ya descrita (51,56). Para la determinación del genotipo de apolipoproteína E se secuenciaron 4 exones y sus zonas intrónicas adyacentes. Los exones 1 y 2 se amplificaron independientemente con cebadores que se solapaban con el objetivo de secuenciarlos como un único exon. El exon 3 se amplificó y secuenció como un único fragmento y el exon 4 se secuenció en dos fragmentos superpuestos. Los productos del PCR (reacción en cadena de la polímera) se secuenciaron usando un equipo de secuenciación MegaBACE™ Dye Terminator system (GEHealthcare) (71).

Determinación de los autoanticuerpos (autoAc) y el significado de su titulación

La determinación de los autoAc se realizó en el laboratorio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Todos los autoAc se determinaron por la técnica de ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), que consiste en detección de un antígeno (en este caso autoAc) por la unión a un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable una vez que se establece dicha unión, por ejemplo, fluorescencia. En el caso de los pANCA su determinación se realiza por métodos enzimáticos, a diferencia del resto de los autoAc detectados, por lo que su metodología se describe en detalle más adelante.

Para la determinación de ANA, AMA y ASMA se siguió el siguiente procedimiento:

1. Diluir el suero problema a 1/40.
 - a) Añadir 10 µL de suero problema a 90 µL de PBS (*Phosphate Buffered Saline*)

(dilución 1/10).

- b) De la dilución anterior(1/10) pasar 50 µL a un tubo con 50 µL de PBS (*Phosphate Buffered Saline*) (dilución 1/20).
 - c) De la dilución anterior (1/20) pasar 50 µL a un tubo con 50 µL de PBS (*Phosphate Buffered Saline*) (dilución 1/40).
 - d) Y así sucesivamente hasta llegar a la dilución de partida según el autoAc a detectar: en caso de ANA la dilución de partida fue 1/80, para AMA la dilución de partida fue 1/80 y para ASMA de 1/40.
2. Sobre un portaobjeto conteniendo células Hep-2 (*Human Epidermoid carcinoma strain 2*), para detectar los ANA y AMA y distribuido por Comercial RAFER S.L. o conteniendo un corte de tejido de estómago de rata para detectar los ASMA en el músculo liso y distribuido por Comercial RAFER S.L., añadir 20 µL de la dilución del suero problema.
 3. Incubar 30 minutos.
 4. Lavar con solución salina.
 5. Añadir antiIgM humana marcada con fluoresceína (distribuido por INNOVA PRODELAB).
 6. Incubar 30 minutos.
 7. Lavar con solución salina.
 8. Poner un "*mounting fluid*" y un cubreobjeto.
 9. Observar al microscopio de fluorescencia con objetivo de 1:40.
- Anticuerpos antinucleares (ANA)

La presencia de ANA positivo en la población general tiene diferente prevalencia, dependiendo de la dilución: diluciones de 1/40 pueden estar presentes en alrededor del

30% de la población y diluciones de 1/160 hasta en el 5% de la población general. Cada laboratorio debe definir su dilución inicial para la detección del ANA y debería considerarse clínicamente relevante aquella dilución que produce un resultado positivo en alrededor del 5% de la población general (42). En nuestro laboratorio se consideraron positivas las diluciones de 1/80.

- Anticuerpos antimitocondriales (AMA)

Los AMA son detectados en más del 90% de los sujetos con cirrosis biliar primaria, su prevalencia en la población general va desde el 0,16-1%, alcanza el 8% en casos infectados por el virus de la hepatitis C (11,72). No obstante, otros textos sugieren que la frecuencia de este autoAc en población general es de alrededor del 2% (73).

- Anticuerpos antimúsculo liso (ASMA)

Pueden encontrarse con títulos bajos en personas sanas en hasta un 5% de sujetos (31).

- Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (pANCA)

Puede encontrarse en el 4% de individuos sanos (31).

Determinación de pANCA

Quanta Lite® MPO SC ELISA fue el proveedor para la determinación de los autoAc pANCA.

Procedimiento para la determinación de los pANCA

Los micropocillos están pre-impregnadas con antígeno MPO. Los calibradores, controles y muestras de paciente diluidas son aplicados a los pocillos y los autoanticuerpos reconociendo el antígeno (mieloperoxidasa) MPO se fijan en la primera incubación. Tras el lavado de los pocillos para eliminar todas las proteínas no fijadas, se añade IgG purificada de suero de cabra anti-humano marcada con peroxidasa. El conjugado se fija al autoAc humano capturado y el exceso de conjugado no fijado se elimina mediante un segundo lavado. El conjugado fijado se visualiza con tetrametilbenzidina 3, 3', 5,

MATERIALES Y MÉTODO

5'(TMB) dando un color azul. La intensidad es proporcional a la concentración de autoanticuerpos en la muestra. Para detener la reacción se añade a cada pocillo ácido sulfúrico. Esto produce un color amarillo a punto final, legible a 450nm.

Reactivos

1. Placa microperforada de poliestireno para ELISA con antígeno MPO (12-1 × 8 pocillos), envasada en su soporte en una bolsa de aluminio con desecante.
2. Control negativo ELISA, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano ausente de anticuerpos humanos a MPO, prediluido, 1,2 ml.
3. Control ELISA MPO SC Calibrador A, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
4. Control ELISA MPO SC Calibrador B, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
5. Control ELISA MPO SC Calibrador C, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
6. Control ELISA MPO SC Calibrador D, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
7. Control ELISA MPO SC Calibrador E, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
8. Control ELISA MPO SC positivo débil, 1 frasco de tampón conteniendo conservante y suero humano con anticuerpos MPO, prediluido, 1,2 ml.
9. Diluyente de Muestra Tipo III, 2 frascos color amarillo conteniendo tampón Tween 20 y conservante, 50 ml.
10. Solución de Lavado Concentrada HRP, 1 frasco de concentrado 40x color rojo conteniendo tampón con Tris y Tween 20, 25ml. Más abajo ver las instrucciones

MATERIALES Y MÉTODO

de dilución.

11. Conjugado HRP MPO SC IgG, humana 1 frasco-color azul conteniendo tampón, estabilizante de proteína y conservante, 10 ml.
12. Cromógeno TMB, 1 frasco conteniendo estabilizantes, 10 ml.
13. Solución de Parada HRP, Acido Sulfúrico 0,344 M, 1 frasco, incolora, 10 ml.

Recolección de Muestras

Las muestras de sangre provino de extracciones venosas, se dejan coagular naturalmente, separando después el suero, que puede conservarse a 2-8°C durante un máximo de 7 días antes del ensayo, o para periodos más largos, distribuir el suero en alícuotas y conservarlo a -20°C o temperatura inferior. Se evitó congelar/descongelar repetidamente las muestras.

Las muestras de suero no deben ser inactivadas mediante calor, ya que puede producir resultados falsos positivos.

Procedimiento

Materiales suministrados por la casa comercial

- Hoja de instrucciones : Indica todos los detalles del ensayo.
- Certificado QC: Indica la funcionalidad esperada del lote.
- MPO SC *Coated Wells* (Pocillos impregnados con MPO SC): 12 × 8 tiras de pocillos sensibilizados con antígeno MPO – código de color verde. Cada placa está metida en una bolsa reutilizable conteniendo 2 desecantes.
- Type III *Sample Diluent* (Diluyente de muestra Tipo III): 2 botellas de color amarillo conteniendo 50mL de tampón para diluir las muestras, listo para usar.
- HRP *Wash Concentrate* (Solución de Lavado Concentrada HRP): 1 botella conteniendo 25mL de tampón de lavado concentrado 40 veces.

MATERIALES Y MÉTODO

- MPO SC *Calibrators* (Calibradores MPO SC): 5 botellas conteniendo cada una de ellas 1,2 mL de suero humano diluido con las siguientes concentraciones de anticuerpos anti-MPO: 100; 33,3; 11,1; 3,7; 1,23 U/mL. Listo para usar.
- MPO SC *Positive Control* (Control positivo MPO SC): 1 botella conteniendo 1,2 mL de suero humano diluido. Listo para usar. El valor esperado se indica en el certificado QC.
- ELISA *Negative Control* (Control negativo ELISA): 1 botella conteniendo 1,2 mL de suero humano diluido. Listo para usar. El valor esperado se indica en el certificado QC.
- HRP MPO SC IgG *Conjugate* (Conjugado HRP MPO SC): 1 botella de color azul conteniendo 10 ml de anticuerpo purificado marcado con peroxidasa anti-IgG humana. Listo para usar.
- TMB *Chromogen* (Cromógeno TMB): 1 botella conteniendo 10 mL de sustrato TMB. Listo para usar.
- HRP *Stop Solution* (HRP Solución de parada): 1 botella conteniendo 10 mL de ácido sulfúrico 0,344M. Listo para usar.

Material necesario no incluido

- Lavador automático de microplacas: Su uso es recomendable, aunque las placas pueden lavarse manualmente.
- Lector de microplacas: Capaz de medir densidades ópticas a 450nm en referencia al aire.
- Agua destilada o desionizada: Ha de ser de la calidad más alta disponible.
- Micropipetas calibradas: Para dispensar 1000, 100 y 10 μ L.
- Pipeta multicanal: Recomendada para dispensar volúmenes de 100 μ L de

MATERIALES Y MÉTODO

conjugado, cromógeno TMB y solución de parada.

- Tubos de vidrio/plástico: Para dilución de la muestra.

Manera de proceder (Antes de empezar)

1. Dejar el kit a temperatura ambiente

Este kit está pensado para ser procesado a temperatura ambiente (20-24 °C).

Sacar el kit del almacenamiento y dejarlo a temperatura ambiente unos 60 minutos. Los pocillos no se deben sacar de la bolsa hasta que no se hayan atemperado.

2. Componentes del kit

Mezclar cuidadosamente cada componente del kit antes de utilizarlo.

3. Tampón de lavado (Concentrado 40x)

Diluir la solución de lavado HRP 1:40 añadiendo el contenido del envase con concentrado a 975 ml de agua destilada o desionizada. Si no va a utilizar toda la placa, puede preparar una cantidad menor de solución de lavado añadiendo 2,0 ml del concentrado a 78 ml de agua destilada para cada 16 pocillos que vayan a utilizarse. El tampón diluido es estable 1 semana a 2-8 °C.

4. Dilución de la muestra

Diluir 10 µL de cada muestra con 1000 µL de diluyente de muestras (1:101) y mezclar bien. Nota: La muestra diluida se debe usar en las 8 horas siguientes.

5. Manipulación del marco y las tiras

Disponer el número necesario de pocillos en la tira. Disponerlos desde la posición A1, rellenando columnas de izquierda a derecha a lo ancho de la placa. Al manipular la placa, apretar los extremos del marco para evitar que caigan los pocillos. Nota: Vuelva a colocar inmediatamente los pocillos no utilizados en el envoltorio de aluminio con los dos sobrecitos de desecante, cerrando firmemente para reducir al mínimo la exposición a la

humedad. Verifique que el envoltorio de aluminio no esté roto ni perforado.

Si los pocillos se exponen a la humedad o a la contaminación por polvo, el antígeno puede degradarse, esto daría lugar a un ensayo con una baja precisión y resultados potencialmente erróneos.

Procedimiento de Ensayo

Mantener la misma secuencia de dispensación durante todo el *test*.

1. Adición de la muestra

Aplicar 100 μ L de cada de calibrador, control y muestra diluida (1:101) a los pocillos correspondientes. Las muestras deben aplicarse lo más rápido posible para minimizar la deriva del análisis, y poner en marcha el cronómetro después de la adición de la última muestra. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.

2. Lavado

El procedimiento de lavado representa un pasaje crítico y requiere particular atención.

Una placa lavada incorrectamente puede dar resultados inexactos, con escasa precisión y valores de fondo elevados. Una vez finalizada la incubación, lave la placa 3 veces con 200-300 μ L de tampón de lavado por pocillo. Utilice un lavador automático o proceda manualmente como se indica a continuación. Después del lavado automático, vuelque la placa sobre papel absorbente golpeando delicadamente hasta que se seque.

Las placas pueden lavarse manualmente según sigue:

- a) Verter el contenido de placa al fregadero.
- b) Sacudir los pocillos sobre papel absorbente seco.
- c) Echar en cada pocillo 200-300 μ L de tampón de lavado utilizando un pipeta multicanal.
- d) Con cuidado agitar la placa sobre una superficie plana.

e) Repetir a-d, dos veces.

f) Repetir a y b.

3. Adición del conjugado

Pipetear 100 μ L de conjugado a cada pocillo, secar la parte de arriba de los pocillos con un pañuelo de papel para eliminar salpicaduras. Para evitar contaminación, nunca devolver el exceso de conjugado a la botella. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.

4. Lavado

Repetir punto 2.

5. Adición del cromógeno TMB

Pipetear 100 μ L de cromógeno TMB en cada pocillo, secar la parte de arriba de los pocillos con un pañuelo de papel para eliminar salpicaduras. Para evitar contaminación, nunca devolver el exceso de TMB a la botella. Incubar 30 minutos a oscuras y a temperatura ambiente.

6. Parada

Pipetear 100 μ L de la solución de parada en cada pocillo. Esto dará un cambio de color de azul a amarillo.

7. Medición de la densidad óptica

Leer la densidad óptica de cada pocillo a 450nm en un lector de microplacas en los siguientes 30 minutos de la reacción.

Control de Calidad

Se realizaron los controles de calidad recomendados por el proveedor.

Medición del grosor íntima-media

La medición del GIM se realizó en la pared posterior de ambas arterias carótidas

MATERIALES Y MÉTODO

mediante ecografía en modo B con un ecógrafo Acuson Sequoia equipado con una sonda lineal de 8 cm y una frecuencia de 8 Mhz, con la que se obtuvieron las imágenes de seis territorios: centímetro final de carótida común y bulbo carotídeo y primer centímetro de carótida interna en ambos lados. Un único investigador fue el encargado de las lecturas, validado por el laboratorio de imagen vascular de Academic Medical Center de Ámsterdam y con un software específico (eTRACK) (74).

Se obtuvieron varias mediciones (variables ecográficas medidas):

ACCDMx: Medición máxima en carótida común derecha

ACCDMd: Medición media en carótida común derecha

ACBDMx: Medición máxima en bulbo carotídeo derecho

ACBDMd: Medición media en bulbo carotídeo derecho

ACIDMx: Medición máxima en carótida interna derecha

ACIDMd: Medición media en carótida interna derecha

ACCIMx: Medición máxima en carótida común izquierda

ACCIMd: Medición media en carótida común izquierda

ACBIMx: Medición máxima en bulbo carotídeo izquierdo

ACBIMd: Medición media en bulbo carotídeo izquierdo

ACIIMx: Medición máxima en carótida interna izquierda

ACIIMd: Medición media en carótida interna izquierda

De estas mediciones se obtuvieron las variables calculadas (variables ecográficas calculadas):

MediaMd: Media de todas las mediciones medias, excepto la medición en carótida interna

MediaMdInt: Media de todas mediciones medias, incluida la carótida interna

MediaMx: Media de todas las mediciones máximas, excepto la medición en carótida interna

MediaMxInt: Media de todas mediciones máximas, incluida la carótida interna

MediaBMx: Media de las mediciones máximas en bulbo carotídeo

Métodos estadísticos

A cada una de las variables cuantitativas continuas se les aplicó el estadístico Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors para determinar su distribución, en casos de $N < 50$ se aplicó el estadístico de Shapiro-Wilk. En aquellas variables con distribución normal se determinó la media y desviación estándar y en aquellas con distribución no paramétrica se determinó la mediana y rango intercuartil.

Las diferencias entre medias y entre medianas se determinaron a través de los estadísticos T-Students y U-Mann-Whitney, respectivamente. Las variables cualitativas se evaluaron mediante tablas de contingencia 2x2 con la prueba de χ^2 de Pearson, pero según la N y el resultado esperado por celdas se utilizó la prueba χ^2 de Pearson corregido por continuidad o la prueba exacta de Fisher.

Para el estudio de las diferencias entre medias/medianas de K muestras independientes se utilizaron los siguientes estadísticos: ANOVA de un factor para muestras con distribución normal y los estadísticos *test* de Kruskal-Wallis, el *test* de medianas y el *test* de Jonckheere-Terpstra para K muestras independientes con distribución no paramétrica. Todos estos *test* se utilizan para muestras independientes procedentes de una misma población. El *test* de Kruskal-Wallis, es una extensión del *test* de U-Mann-Whitney, siendo el análogo no paramétrico del análisis de ANOVA de un factor y detecta diferencias entre varianzas. El *test* de las medianas es más general y menos potente que el *test* de Kruskal-Wallis. El *test* de Kruskal-Wallis y el *test* de las medianas asumen que no

hay ordenamiento *a priori* de las muestras (ascendente o descendente), cuando hay ordenamiento *a priori* usamos el *test* de Jonckheere-Terpstra, por tanto en las tablas de resultados mostramos habitualmente la *p* ofrecida por al utilizar el *test* de Jonckheere-Terpstra. En los análisis de ANOVA de un factor se utilizó el *test* de Bonferroni para el análisis *post hoc*. El análisis *post hoc* en variables no paramétricas se realizó con el estadístico U-Mann-Whitney.

Las correlaciones estudiadas se realizaron con el estadístico de Spearman para variables no paramétricas.

Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS para Windows versión 19 y se calcularon con un intervalo de confianza del 95%.

Financiación

Obtenida a partir del Grupo Consolidado DGA B-80.

Dirección de facturación: Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Avenida San Juan Bosco, nº13, 50009 Zaragoza. IP: Fernando Civeira Murillo

Consentimiento informado

Las muestras utilizadas pertenecen a la colección de muestras de dislipemias del Biobanco de Aragón. Los sujetos ya han firmado un consentimiento informado para la utilización de las muestras biológicas para investigación biomédica.

Resultados

Se estudiaron un total de 365 sujetos, todos del sexo femenino y de ellos 160 casos controles y 205 casos con hipercolesterolemia primaria con cLDL \geq 190 mg/dL y sin mutación en el LDLR, en ambos grupos cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión mencionados en materiales y método.

La muestra estudiada de casos con hipercolesterolemia fue mayor que la prevista en el cálculo del tamaño muestral, sin embargo, la muestra estudiada de casos controles estuvo por debajo, en 4 sujetos, de lo previsto en el diseño de la investigación en cuanto a la determinación de autoAc y se debió a ausencia de muestras biológicas de los sujetos en el Biobanco de Aragón.

Diferencias entre casos y controles

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos con hipercolesterolemia y los controles en todas las variables estudiadas excepto para la TSH y la creatinina (tabla 4). En general estas diferencias en las variables cuantitativas eran esperadas teniendo en cuenta que los controles son mujeres adultas sanas y los casos son sujetos con hipercolesterolemia primaria.

RESULTADOS

Tabla 4. Características generales (variables cuantitativas) de los sujetos estudiados.

Variable	Hipercolesterolemia primaria		Controles		p
	N	Media/Mediana	N	Media/Mediana	
Edad (años)	205	55 (49-60)	160	37,5 (26,0-54,0)	0,000
Colesterol (mg/dL)	206	304 (288-325,2)	158	196,5 (169-215)	0,000
TG (mg/dL)	206	99 (79,7-135,5)	158	61,0 (45,7-85,0)	0,000
cHDL (mg/dL)	206	64,6 (15,5)	157	60,2 (11,8)	0,002
cLDL (mg/dL)	206	214,5 (201-233)	157	117,8 (100-140)	0,000
Lp(a) (mg/dL)	203	31,1 (15-73,7)	147	16,2 (7,3-37,9)	0,000
ApoA1 (mg/dL)	205	169 (148-195,5)	144	163,5 (143,0-182,7)	0,045
ApoB (mg/dL)	205	150 (134-166)	143	88,1 (72,8-106)	0,000
PCR (mg/dL)	202	1,3 (0,6-2,9)	133	1,0 (0,45-2,2)	0,028
TSH	203	2,2 (1,4-3,2)	133	2,07 (1,3-2,7)	0,126
GGT	205	18 (14-25)	137	14,0 (12,0-18,5)	0,000
GPT	205	18 (15-23)	138	15,0 (12,0-19,0)	0,000
Creatinina (mg/dL)	205	0,72 (0,6-0,8)	138	0,7 (0,6-0,8)	0,292
Glucosa (mg/dL)	206	86 (81-93)	148	85 (79,5-90)	0,043
Insulina	123	5,9 (4,1-9,2)	29	3,35 (1,5-5,8)	0,001
PAS (mmHg)	203	129 (118-140)	148	112 (105-123)	0,000
PAD (mmHg)	204	80 (73,2-86,7)	148	70 (65-80)	0,000
IMC (kg/cm ²)	206	24,7 (22,2-26,9)	148	22,3 (20,4-24,2)	0,000
Cintura (cm)	201	85 (78-91)	144	79,1 (72-87)	0,000
Ferritina (mg/dL)	184	51,2 (28,1-78,5)	152	30,6 (16,7-58,8)	0,000

Media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil).

Con respecto a las variables cualitativas en los casos y controles se encontraron diferencias significativas en la presencia de tabaquismo, pero el fenotipo de apoE y la presencia de enfermedad cardiovascular no mostraron diferencias entre casos y controles (tabla 5).

RESULTADOS

Tabla 5. Características generales (variables cualitativas) de los sujetos estudiados.

Variables		Hipercolesterolemia primaria	Controles	Total	p
ApoE	E2/E3	6 (37,5)	10 (62,5)	16 (100)	0,389
	E2/E4	1 (100)	0 (0)	1 (100)	
	E3/E3	144 (55,4)	116 (44,6)	260 (100)	
	E3/E4	50 (61,7)	31 (38,3)	81 (100)	
	E4/E4	4 (57,1)	3 (42,9)	7 (100)	
ECV	Si	5 (100)	0 (0)	5 (100)	0,126
	No	200 (55,7)	159 (44,3)	359 (100)	
Tabaquismo	Fumador	46 (64,8)	25 (35,2)	71 (100)	0,02
	Exfumador	54 (70,1)	23 (29,9)	77 (100)	
	No	104 (49,3)	107 (50,7)	211 (100)	

* Utilizado el *test* de Pearson corregido por continuidad (para muestras mayores de 40 y resultados esperados en celdas inferiores a 5 y mayores que 1). N (%)

La presencia de ANA o de autoAc relacionados más específicamente con patología autoinmune de la vía biliar no mostró diferencias significativas en los grupos estudiados, los porcentajes de autoAc fueron similares en ambos grupos (tabla 6).

Tabla 6. Autoanticuerpos en casos y controles.

	Hipercolesterolemia primaria	Controles	Total	p
ANA	14 (190), 7,36%	15 (146), 10,27%	29 (336), 8,63%	0,389
AMA	2 (203), 0,98%	0 (161), 0%	2 (364), 0,54%	0,209
ASMA	0 (157), 0%	3 (193), 1,55%	3 (350), 0,85%	0,056
pANCA	0,17 (0,05-0,37)	0,13 (0,05-0,42)	0,16 (0,05-0,41)	0,481

Autoanticuerpos positivos (número de casos), porcentaje. N de pANCA: 339 sujetos.

RESULTADOS

Si analizamos los casos y controles (intragrupo): no hay diferencias significativas en cuanto al colesterol, TG, cHDL y cLDL y demás variables cuantitativas, según resultados de ANA, excepto para GPT en sujetos con hipercolesterolemia primaria pero siempre con cifras dentro de límites considerados normales (tabla 7).

Tabla 7. Diferencias entre las variables cuantitativas en casos y controles, según resultado de anticuerpos antinucleares.

	Hipercolesterolemia primaria			Controles		
	ANA positivo	ANA negativo	p	ANA positivo	ANA negativo	p
Edad (años)	54,5 (43,7-61,50), 14	55 (49,5-60), 190	0,699	37,5 (30,7-59), 14	37,5 (26-54), 146	0,467
Colesterol (mg/dL)	296,5 (268,2-313), 14	304,5 (288-326,2), 190	0,257	203,9 (31,7), 14	194,5 (32,2), 144	0,298
TG (mg/dL)	93 (83,2-109,5), 14	100 (80-137,7), 190	0,283	54 (43,2-81), 14	61 (46-85,7), 144	0,402
cHDL (mg/dL)	60,5 (49-73,2), 14	63 (54-74), 190	0,375	62,2 (13,2), 14	60 (11,6), 143	0,499
cLDL (mg/dL)	211 (197,5-233,3), 14	214,5 (201-234), 190	0,649	129,3 (25,2), 14	120,3 (27,7), 143	0,247
Lp(a) (mg/dL)	23,1 (10,8-88,9), 14	31,6 (16,1-73,7), 187	0,442	15,9 (7,78-57,1), 14	16,2 (7,3-37,3), 133	0,644
ApoA1 (mg/dL)	179 (143,5-195), 14	169 (148-191), 189	0,839	164,5 (143-176), 14	163 (143-183), 130	0,917
ApoB (mg/dL)	151,7 (29,6), 14	150,9 (24,8), 189	0,918	90 (21,6), 14	89,8 (23,6), 129	0,974
PCR (mg/dL)	1,35 (0,95-2,08), 14	1,3 (0,6-3), 189	0,952	0,80 (0,3-1,5), 11	1 (0,5-2,25), 122	0,320
GGT	17,5 (14-37,2), 14	18 (14-25), 189	0,748	13 (10,2-16), 12	15 (12,5-19), 125	0,317
GPT	23,5 (16,5-30,2), 14	18 (14,5-22), 189	0,044	17 (13-21,2), 12	15 (12-19), 126	0,351

Media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil), N.

RESULTADOS

No fue posible realizar estudios estadísticos en los grupos (intragrupo) estudiados separando cada grupo según resultados de AMA y ASMA, ya que sólo hay dos casos positivos en el grupo de hipercolesterolemia primaria. En controles habían 3 sujetos con AMA y ASMA positivo, utilizando el *test* de Shapiro-Wilk se determinó su distribución. Los resultados estadísticos son cuestionables debido al bajo número de sujetos estudiados con AMA y ASMA positivos, en ningún caso obtuvimos diferencias significativas (tabla 8).

Tabla 8. Diferencias entre variables cuantitativas entre casos y controles, según resultados de autoanticuerpos AMA y ASMA.

	Hipercolesterolemia primaria			Controles		
	AMA/ASMA positivos	AMA/ASMA negativos	p	AMA/ASMA positivos. N=3	AMA/ASMA negativos. N=157	p
Edad (años)	Sólo son dos casos con AMA/ASMA +			54 (34-58)	37 (26-54)	0,308
Colesterol (mg/dL)				195,5 (32,3)	186,6 (21,2)	0,638
TG (mg/dL)				80 (63-111)	60 (45-85)	0,207
cHDL (mg/dL)				60,4 (11,8)	50 (5,2)	0,130
cLDL (mg/dL)				121,2 (27,7)	119,8 (20,3)	0,930
Lp(a) (mg/dL)				32,1 (24,1-149)	16 (7,3-37,6)	0,103
ApoA1 (mg/dL)				144 (134-166)	164 (143-183)	0,272
ApoB (mg/dL)				89,6 (23,5)	98,4 (9,7)	0,523
PCR (mg/dL)				0,5 (0,3-1,1)	1 (0,48-2,25)	0,313
GGT				14 (11-15)	14,5 (12-19)	0,526
GPT				18 (15-18)	15 (12-19)	0,438

Media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil).

RESULTADOS

Diferencias entre grupos ANA positivos vs ANA negativos

Se procedió a la separación de la muestra según resultados de los ANA. No se encontraron diferencias en las variables cuantitativas estudiadas entre los sujetos con ANA positivo vs ANA negativos, independientemente del grupo a que pertenecen (casos o controles) (tabla 9)

Tabla 9. Diferencias entre las variables cuantitativas, según resultados de anticuerpos antinucleares.

	ANA positivo. N=25	ANA negativo. N=296	p
Edad (años)	50 (32,2-60,7)	51 (36-59)	0,973
Colesterol (mg/dL)	256,5 (197-297,7)	277 (204-308)	0,437
TG (mg/dL)	82 (49,7-103,7)	85 (60-119)	0,131
cHDL (mg/dL)	63,5 (5,5-72,7)	61 (52-70,5)	0,889
cLDL (mg/dL)	190,1 (122-215)	195 (124-218)	0,653
Lp(a) (mg/dL)	19 (8,3-69,1)	24,1 (10,8-55,6)	0,618
ApoA1 (mg/dL)	167 (145,2-191,2)	166 (146-186)	0,955
ApoB (mg/dL)	121,5 (82,1-149)	130 (93,4-154)	0,372
PCR (mg/dL)	1,2 (0,45-1,85)	1,2 (0,5-2,7)	0,544
GGT	16 (12,7-22)	16 (13-22)	0,636
GPT	19 (14,7-27,2)	17 (13-22)	0,057

Mediana (rango intercuartil).

RESULTADOS

Dividiendo los resultados de la determinación de los ANA en tertiles, obtenemos que en ningún caso se encontraron diferencias significativas entre las variables cuantitativas. (tabla 10).

Tabla 10. Diferencias entre las variables cuantitativas según tertiles de anticuerpos antinucleares.

	1^{er} tercil de ANA. N=8	2^o tercil de ANA. N=9	3^{er} tercil de ANA. N=11	P
Edad (años)	50 (34,7-55,5)	44 (29-58,5)	61 (33-69)	0,183
Colesterol (mg/dL)	256,6 (87,9)	249,1 (61,2)	257 (46,6)	0,627
TG (mg/dL)	73,8 (28,2)	70,2 (36,4)	87,5 (28,3)	0,375
cHDL (mg/dL)	56,1 (16,7)	62,7 (14)	65,1 (20,9)	0,499
cLDL (mg/dL)	182,9 (84,6)	172,1 (51,3)	173 (37,2)	0,916
Lp(a) (mg/dL)	20,2 (9,75-93,7)	19,9 (6,05-61,05)	18,2 (9,96-53,3)	0,751
ApoA1 (mg/dL)	159 (23,1)	164 (32,8)	179,9 (43,6)	0,352
ApoB (mg/dL)	121 (49,1)	123 (49,3)	118,9 (27,7)	0,983
PCR (mg/dL)	0,9 (0,4-1,9)	0,65 (0,3-3,70)	1,45 (1,2-2)	0,220
GGT	14,5 (9,5-20)	16,5 (12,2-48,2)	16 (14-22,5)	0,294
GPT	16,5 (14,5-21,2)	23 (17-42,2)	21,5 (12,7-27,7)	0,571

P: *test* de Jonckheere-Terpstra

RESULTADOS

Diferencias entre grupos con AMA/ASMA positivos vs AMA/ASMA negativos

Por otro lado, agrupando sujetos estudiados según los resultados de los autoAc relacionados con patología autoinmune de la vía biliar (AMA y ASMA positivos/negativos), se encontraron diferencias significativas en cuanto a los valores plasmáticos de cHDL y apoA1, las otras variables estudiadas no mostraron diferencias (tabla 11).

Tabla 11. Diferencias entre variables cuantitativas según resultados de autoanticuerpos antimitocondriales y antímúsculo liso.

	AMA y ASMA positivos		AMA y ASMA negativos		p
	N	Media/Mediana	N	Media/Mediana	
Edad (años)	5	54 (38,5-61)	360	51 (35,2-59)	0,702
Colesterol (mg/dL)	5	204 (178-842)	359	276 (204-307)	0,481
TG (mg/dL)	5	111 (71,5-159)	359	84 (59-115)	0,216
cHDL (mg/dL)	5	48,4 (9,52)	358	62,9 (14,1)	0,023
cLDL (mg/dL)	5	133 (113,2-772)	358	195 (124,5-218)	0,961
Lp(a) (mg/dL)	5	32,1 (13,1-147)	345	23,7 (10,2-55,5)	0,388
ApoA1 (mg/dL)	5	139 (98-155)	344	166 (146,2-186,7)	0,018
ApoB (mg/dL)	5	109 (93,1-142,5)	343	129 (93,1-154)	0,537
PCR (mg/dL)	5	1,1 (0,4-2,75)	330	1,2 (0,5-2,6)	0,750
TSH	5	1,39 (0,99-6,92)	331	2,14 (1,41-3,05)	0,581
GGT	5	14 (12-642)	337	16 (13-22)	0,498
GPT	5	18 (16,5-54)	338	17 (13-22)	0,218
Creatinina (mg/dL)	5	0,78 (0,210)	338	0,73 (0,125)	0,357
Glucosa (mg/dL)	5	89 (79-95,5)	349	85 (80-92)	0,695
Insulina	5	2,19 (2,4-16)	149	5,6 (3,3-8,2)	0,648
PAS (mmHg)	5	110 (104,5-147,5)	346	122 (11-138)	0,380
PAD (mmHg)	5	70 (8,5)	347	77,2 (11,1)	0,147
IMC (Kg/m²)	5	25 (2,64)	349	23,6 (3,18)	0,326
Cintura (cm)	5	82,8 (10,2)	340	82,8 (10,1)	0,996
Ferritina	5	30,2 (19,5-48,7)	331	39,4 (21,8-70,3)	0,406

Media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil). P: usando t-Students o U-Mann-Whitney, según corresponda para variables con distribución paramétrica o no paramétrica, respectivamente.

RESULTADOS

En los grupos estudiados (AMA y ASMA positivos/negativos), no se encontraron diferencias significativas en cuanto a las variables cualitativas fenotipo de apoE, enfermedad cardiovascular y tabaquismo (tabla 12).

Tabla 12. Diferencias entre variables cuantitativas según resultados de autoanticuerpos antimitocondriales y antimúsculo liso.

Variables		AMA y ASMA positivos	AMA y ASMA negativos	Total	p
ApoE	E2/E3	0 (0)	16 (100)	16 (100)	0,983
	E2/E4	0 (0)	1 (100)	1 (100)	
	E3/E3	4 (1,5)	256 (98,5)	260 (100)	
	E3/E4	1 (1,2)	80 (98,8)	81 (100)	
	E4/E4	0 (0)	7 (100)	7 (100)	
ECV	Si	1 (20)	4 (80)	5 (100)	0,067*
	No	4 (1,1)	355 (98,9)	359 (100)	
Tabaquismo	Fumador	1 (1,4)	70 (98,6)	71	0,997
	Exfumador	1 (1,3)	76 (98,7)	77	
	No	3 (1,4)	208 (98,6)	211	

*Prueba exacta de Fisher. N(%)

Valoración de la proteína C reactiva

Dividiendo los casos según cuartiles de PCR obtenemos diferencias significativas en todas las variables cuantitativas estudiadas, por ejemplo, colesterol, triglicéridos, cHDL, cLDL, etc (datos no mostrados).

Analizando la titulación de ANA según cuartiles de PCR, se obtuvo que en los primeros cuartiles de PCR se agrupaban los casos con menor titulación de ANA, y en los cuartiles más altos de PCR se agrupaban los casos con mayor titulación de ANA, con valor de $p < 0,05$ (tabla 13).

RESULTADOS

Tabla 13. Titulación de ANA según cuartiles de PCR

		Cuartiles de PCR				Total
		1	2	3	4	
ANAc	0	86 (91,4)	67 (95,7)	77 (87,5)	78(96,2)	308 (92,4)
	1/10	3 (3,19)	2 (2,85)	1 (1,13)	1 (1,23)	7 (2,1)
	1/80	4 (4,25)	1 (1,42)	1 (1,13)	2 (2,46)	8 (2,4)
	1/160	1 (1,06)	0 (0)	4 (4,54)	0 (0)	5 (1,5)
	1/320	0 (0)	0 (0)	3 (3,4)	0 (0)	3 (0,9)
	1/640	0 (0)	0 (0)	2 (2,27)	0 (0)	2 (0,6)
Total		94 (100)	70 (100)	88 (100)	81 (100)	333 (100)

P=0,040, N(%)

En otras tablas de contingencia, utilizando cuartiles de PCR vs AMA/ASMA/genotipos de ApoE/presencia de enfermedad cardiovascular/tabaquismo no se encontraron diferencias significativas, excepto para el fenotipo de ApoE en el cual hay un aumento del genotipo E3/E3 en casos con más PCR y menos genotipo E3/E4 en estos mismo casos con respecto a los casos con menos PCR (P=0,029) (datos no mostrados).

Retomando la titulación de los ANA vs tiles de PCR, en las tablas 14 y 15 puede apreciarse que se mantiene la significación estadística independientemente de que se disminuyan los tiles de ANA o de PCR.

RESULTADOS

Tabla 14. Tertiles de ANA (según titulación) vs cuartiles de PCR

		Cuartiles de PCR				Total
		1	2	3	4	
Tertiles de ANAc	1	3 (37,5)	2 (66,6)	1 (9,09)	1(33,3)	7 (28)
	2	4 (50)	1 (33,3)	1 (9,09)	2 (66,6)	8 (32)
	3	1 (12,5)	0 (0)	9 (81,8)	0 (0)	10 (4)
Total		8 (100)	3 (100)	11 (100)	3 (100)	25 (100)

P= 0,015, N(%)

Tabla 15. Tertiles de ANA (según titulación) según 2 tiles PCR

		2TILES de PCR		Total
		1	2	
Tertiles de ANAc	1	5 (45,4)	2 (14,2)	7 (28)
	2	5 (45,4)	3 (21,4)	8 (32)
	3	1 (9,09)	9 (64,2)	10 (40)
Total		11 (100)	14 (100)	25 (100)

P= 0,019, N(%)

En otras tablas de contingencia, utilizando 2 tiles de PCR vs AMA/ASMA/genotipos de ApoE/presencia de enfermedad cardiovascular/tabaquismo tampoco se obtuvieron resultados estadísticamente significativos excepto para fenotipo de ApoE en el cual hay un aumento del fenotipo E3/E3 en casos con más PCR (grupo 2 de PCR) y menos fenotipo E3/E4 en estos mismo casos con respecto al primer grupo de PCR (P=0,023) (datos no mostrados), resultado similar y ya visto en párrafos anteriores.

Análisis del GIM carotídeo en el grupo de casos, según resultados de los autoanticuerpos. Variables estudiadas: edad, colesterol, cHDL, PCR y mediciones ecográficas del GIM

Seguidamente analizamos las variables ecográficas en casos con autoAc positivos y negativos. En ningún caso, tanto para variables ecográficas medidas o calculadas, se obtienen diferencias significativas comparando todos los casos con autoAc positivos vs negativos.

RESULTADOS

Tabla 16. Variables cuantitativas y mediciones ecográficas calculadas en casos con y sin autoanticuerpos.

	Autoanticuerpos positivos	Autoanticuerpos negativos	p
Edad (años)	54 (43-62,5), 16	55 (49,5-60), 189	0,724
Colesterol (mg/dL)	296 (271-319), 16	304 (288-326), 190	0,352
cHDL (mg/dL)	59,3 (21,1), 16	65,1 (15), 190	0,157
PCR (mg/dL)	1,45 (1,13-2,43), 16	1,3 (0,58-3), 186	0,659
MediaMd (mm)	0,82 (0,13), 8	0,71 (0,13), 100	0,195
MediaMdInt (mm)	0,83 (0,67-0,85), 8	0,73 (0,66-0,82), 102	0,441
MediaMx (mm)	1,01 (0,89-1,17), 8	0,94 (0,83-1,06), 102	0,222
MediaMxInt (mm)	1,02 (0,84-1,06), 8	0,92 (0,83-1,04), 102	0,519
MediaBMx (mm)	1,13 (0,94-1,46), 8	1,05 (0,90-1,22), 100	0,236

Media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil), N.

MediaMd: media aritmética de mediciones md sin la medición en carótida interna.

MediaMdInt: media aritmética de mediciones md más la medición en carótida interna.

MediaMx: media aritmética de mediciones máximas sin la medición en carótida interna.

MediaMxint: media aritmética de mediciones máximas más la medición en carótida

interna. MediaBMx: Media aritmética de las mediciones máximas en bulbo carotídeo.

Análisis del GIM carotídeo en el grupo de casos con autoanticuerpos positivos. Variables estudiadas: edad, colesterol, cHDL, PCR y mediciones ecográficas del GIM

Al dividir en tertiles de cHDL no se pudo conocer la distribución de las variables ecográficas medidas y calculadas en el tercer tercil. No obstante, considerando que tuvieran una distribución no paramétrica como en los tertiles 1 y 2, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos según el estadístico de Kruskal-Wallis ni con el *test* de Jonckheere-Terpstra.

Para el análisis por tertiles de PCR las variables de los tertiles 1 y 2 tenían distribuciones normales, la distribución del tercer tercil no se pudo conocer aplicando el *test* de Shapiro-Wilk por lo que se aplicó el *test* de Kolmogorov-Smirnov sin corrección de Lilliefors y en este caso la variable se distribuyó normal.

Se encontraron diferencias significativas en las mediciones ecográficas ACBIMx, MediaMx y MediaBMax con p de 0,02, 0,031, 0,018; respectivamente, utilizando el *test* de

RESULTADOS

ANOVA de un factor, como puede apreciarse en la tabla 17.

Tabla 17. Mediciones ecográficas según tertiles de PCR en sujetos con autoanticuerpos positivos.

	PCR 1 ^{er} tercil, n=3	PCR 2 ^o tercil, n=3	PCR 3 ^{er} tercil, n=2	p*
ACBIMx (mm)	1 (0,04)	1,33 (0,18)	1,84 (0,03)	0,02
MediaMx (mm)	0,89 (0,09)	1,03 (0,11)	1,26 (0,1)	0,031
MediaBMx (mm)	0,97 (0,13)	1,17 (0,15)	1,5 (0,005)	0,018

Media (desviación estándar).

ACBIMx: Medición máxima en el bulbo carotídeo izquierdo. MediaMx: media aritmética de mediciones máximas sin la medición en carótida interna. MediaBMx: Media aritmética de las mediciones máximas en bulbo carotídeo.

* Aplicando ANOVA de un factor. La aplicación del análisis *post hoc* con el *test* de Bonferroni demuestra que las diferencias se encuentran entre los tertiles 1 y 2 para las variables ACBIMx, MediaMx y MediaBMx.

Finalmente estudiamos la correlación entre el colesterol, la PCR y las variables ecográficas, tanto medidas como las variables calculadas, encontrando que la PCR se correlaciona con algunas variables ecográficas. Tabla 18.

Tabla 18. Correlación entre PCR y variables ecográficas en casos con autoanticuerpos positivos

	PCR n=8	
	Coefficiente de correlación	p
ACCIMd (mm)	0,731	0,040
ACBIMd (mm)	0,838	0,009
MediaMx (mm)	0,802	0,017
MediaBMx (mm)	0,719	0,045

ACCIMd: Medición media del GIM en arteria carótida interna derecha. ACBIMd: Medición media del GIM en arteria bulbo carotídeo derecho. MediaMx: Media de todas las mediciones máximas, excepto la medición en carótida interna. MediaBMx: Media de las mediciones máximas en bulbo carotídeo.

Extensión I: Análisis del GIM carotídeo en la muestra (casos + controles), según resultados de autoanticuerpos. Variables estudiadas: edad, colesterol, cHDL, PCR y mediciones ecográficas del GIM

No se encontraron diferencias significativas en las variables ecográficas medidas y

RESULTADOS

calculadas en el análisis de toda la muestra según tengan o no autoAc positivos, en este caso la n de casos con autoAc positivos fue de 20 sujetos. Tampoco se obtuvieron resultados con diferencias significativas en la edad, colesterol, cHDL y PCR (tablas no mostradas).

Extensión II: Análisis del GIM carotídeo en el grupo de casos, según tertiles PCR y cHDL para las mediciones ecográficas del GIM

Se encontraron diferencias significativas en ACCIMd, el resto de las variables ecográficas medidas o calculadas no mostraron diferencias significativas (tabla 19) al dividir según tertiles de PCR. El análisis según tertiles de cHDL no mostró diferencias en ninguna de las variables ecográficas estudiadas.

Tabla 19. Mediciones ecográficas según tertiles de PCR en el grupo de casos.

	PCR 1 ^{er} tercil, n=31	PCR 2 ^o tercil, n=37	PCR 3 ^{er} tercil, n=37	p*
ACCIMd (mm)	0,67 (0,1)	0,75 (0,11)	0,71 (0,11)	0,028

Media (desviación estándar).

ACCIMd: Medición media en carótida común izquierda.

* Aplicando ANOVA de un factor. La aplicación del análisis *post hoc* con el *test* de Bonferroni demuestra que las diferencias se encuentran entre los tertiles 1 y 2.

Extensión III: Análisis del GIM carotídeo en la muestra (casos + controles), según tertiles de PCR y cHDL para las mediciones ecográficas del GIM

Extendiendo el análisis para toda la muestra se obtuvieron diferencias significativas en varias variables ecográficas, medidas y calculadas, según los tertiles de PCR (tabla 20). El análisis según tertiles de cHDL no mostró diferencias significativas (datos no mostrados).

RESULTADOS

Tabla 20. Mediciones ecográficas según tertiles de PCR en la muestra (casos + controles).

	PCR 1^{er} tertil	PCR 2^o tertil	PCR 3^{er} tertil	p	p2
ACBDMx (mm)	0,91 (0,79-1,09), 50	1 (0,84-1,12), 56	1 (0,84-1,25), 65	0,021	0,018
ACBDMd (mm)	0,70 (0,58-0,80), 50	0,76 (0,62-0,85), 56	0,76 (0,65-0,90), 64	0,045	0,040
ACIIMx (mm)	0,73 (0,56-0,96), 50	0,79 (0,69-0,86), 55	0,84 (0,70-1,02), 64	0,024	0,050
ACIIMd (mm)	0,58 (0,46-0,76), 50	0,62 (0,55-0,69), 55	0,65 (0,54-0,78), 64	0,029	0,036
MediaMxInt (mm)	0,84 (0,74-1,02), 50	0,89 (0,77-1,01), 57	0,92 (0,77-1,1), 65	0,033	0,038

Mediana (Rango intercuartil), N.

ACBDMx y ACBDMd: Medición del GIM en el bulbo carotídeo derecho, máximo y medio, respectivamente. ACIIMx y ACIIMd: Medición del GIM en carótida interna izquierda, máximo y medio, respectivamente. MediaMxInt: media aritmética de mediciones máximas con la medición en carótida interna.

P2: Valor de p aplicando el estadístico de U-Mann-Whitney se obtienen que las diferencias significativas son entre los tertiles 1 y 3.

Discusión

La CBP cursa con cifras elevadas de colesterol como en otras enfermedades con colostasis, sin embargo cifras muy altas, como el caso descrito anteriormente (en hipótesis de trabajo), no son frecuentes. Durante la evolución de la CBP el colesterol total tiende a disminuir en la medida que avanza la enfermedad hepática y sus cifras plasmáticas son casi independientes de la bilirrubina total, indicando que la respuesta inmune dirigida contra las células epiteliales biliares inducen defectos de excreción específicos, más que la destrucción de los conductos biliares dentro de la triada portal. El caso presentado, que sirve de base para la realización de este estudio, confirma el papel fundamental de la excreción biliar del colesterol, colestanol y fitosteroles en la CBP (58). Aparte de ABCG5/ABCG8, no se han identificado otras enzimas o transportadores que participen en el proceso de excreción biliar de esteroides. En sujetos con sitosterolemia con ausencia funcional de actividad de ABCG5/ABCG8 los fitosteroles plasmáticos son extremadamente altos pero el colesterol total está levemente elevado, esta discrepancia entre los fitosteroles del plasma y el colesterol en pacientes con sitosterolemia ha sido explicado por un aumento de la absorción intestinal fitosteroides, que en sujetos normales es tan bajo como del 1 a 2 %. Por tanto, la alta absorción intestinal de fitosteroides junto con una excreción biliar defectuosa podría llevar a la acumulación de fitosteroides en la sitosterolemia (58).

En el paciente comentado previamente, al exponer la hipótesis, en ausencia de cualquier defecto de absorción intestinal, la concentración plasmática de fitosteroides estuvo en el rango superior de los reportados para la sitosterolemia, por lo que se sospechó que la CBP en este sujeto redujo drásticamente la excreción biliar de fitosteroides, probablemente por bloqueo de los transportadores ABCG5/ABCG8 por un mecanismo

inmunológico desconocido en los conductos biliares (58). La elevación plasmática de fitosteroles ha sido previamente reportado en un caso de CBP con sitosterolemia por mutaciones en el gen de ABCG8, sin embargo en el caso nuestro este mecanismo no es planteable al no detectarse mutaciones en el gen de ABCG5/ABCG8 (58).

La prevalencia de los autoAc estudiados fue similar en el grupo de hipercolesterolemia primaria y en el grupo control. Por tanto, nuestra hipótesis que planteaba que los sujetos con hipercolesterolemia primaria pudieran tener un alteración inmunológica cuyo órgano diana sería la vía biliar, expresado por un aumento en la prevalencia de autoAc con respecto a controles, no se sostiene según nuestros resultados.

Al no poder demostrar que la presencia de autoAc sin enfermedad clínica, modifican el perfil lipídico o explican aumentos del colesterol, no se justifica la búsqueda de estos autoAc de forma rutinaria en la valoración de sujetos con hipercolesterolemia. Por tal motivo, consideramos que la realización de bilirrubina total es suficiente para descartar patología de la vía biliar como causa secundaria de hipercolesterolemia al realizar estudios de *screening* de desórdenes del metabolismo lipídico (75,76).

No obstante, y como se verá más adelante, si el análisis se realiza solamente con sujetos AMA/ASMA positivos o negativos encontramos diferencias en el perfil lipídico.

Los niveles de pANCA no mostraron diferencias entre los casos y los controles y todos los resultados fueron normales y muy alejados del punto de corte de normalidad.

HDL, inflamación y enfermedades autoinmunes

En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en cuanto al perfil lipídico en sujetos con y sin ANA positivos, lo cual sugiere que la presencia del ANA *per se* no modifica dicho perfil, sin embargo encontramos una disminución significativa del cHDL y apoA1 en el grupo de sujetos con autoAc AMA y ASMA positivos comparativamente con

DISCUSIÓN

los sujetos AMA y ASMA negativos.

La HDL es una lipoproteína densa y pequeña, en relación con las otras lipoproteínas, con un diámetro de 8-10 nm y una densidad de 1,063-1,21 g/mL, es una partícula plurimolecular, casi esférica o discoide, compuesta fundamentalmente por lípidos y apoproteínas pero también contiene otros tipos de proteínas: enzimas, reactantes de fase aguda y lípidos no polares. Dicha heterogeneidad de la composición de las HDL le aporta propiedades químicas y biológicas también heterogéneas (77).

Se han descrito diferentes subclases de HDL dependiendo de su tamaño, forma, composición lipídica y proteica, por ejemplo, según su densidad (ultracentrifugación): HDL2 (1.063–1.125 g/mL), HDL3 (1.125–1.21 g/mL), según su tamaño: HDL2b (9.7–12.0 nm), HDL2a (8.8–9.7 nm), HDL3a (8.2–8.8 nm), HDL3b (7.8–8.2 nm), HDL3c (7.2–7.8 nm), según su forma y carga (gel de agarose): α -HDL (esféricas), Pre β -HDL (discoidal), etc (77).

Los componentes proteicos de las HDL son múltiples y heterogéneos: Apolipoproteína (apo) A1, apo AII, apo AIV, apoC, apoD, apoE, apoF, etc, siendo la más importante la apoA1; componentes enzimáticos como la lecitin-colesterol-acil-transferasa (LCAT) y paroxonasas; proteínas transportadoras de lípidos como la proteína transportadora de fosfolípidos (PLTP) y la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP); reactantes de fase aguda como la proteína amiloide sérica A1 y A2 (SAA1 y SAA2), la α -2-HS-glicoproteína, el fibrinógeno, componentes del complemento, la α -1-antitripsina, la transtiretrina, etc (77).

La apoA1 constituye el 70% de las proteínas de las HDL y está involucrada en la interacción con receptores celulares y en la activación con la lecitin-colesterol-acil-transferasa (LCAT), su síntesis y secreción son en el hígado y el intestino delgado, respectivamente (77). La LCAT es otra de las enzimas fundamentales en el metabolismo

DISCUSIÓN

de las HDL y cataliza la esterificación del colesterol, la proteína transportadora de fosfolípidos (PLTP) modifica el tamaño de las HDL y modifica su contenido en lípidos y finalmente la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) intercambia ésteres de colesterol y triglicéridos entre la HDL y las lipoproteínas que contienen apoB (77). Otro componente fundamental de las HDL son las proteínas de fase aguda. La SAA1 es producida fundamentalmente en el hígado y no existe en plasma en su forma libre sino que se encuentra fundamentalmente en las HDL, los componentes C3 y C4 del complemento también se encuentran asociados a las HDL (77).

La ABCA1 es una proteína ubicua que pertenece a la familia de transportadores ABC y se expresa abundantemente en el hígado, cerebro y otros tejidos, en el hepatocito se localiza en la superficie basocelular. La expresión de ABCA1 es inducida por LXR y promueve el eflujo de colesterol desde la células a las HDL pero no a las apoA1 que no contengan lípidos (77).

La mayoría de las partículas de HDL se originan a partir de apoA1 libre de lípidos o con poca cantidad de lípidos, que es producida por el hepatocito o la mucosa intestinal u obtenidas a partir de la lipólisis de quilomicrones o VLDL. La interacción de estas partículas iniciales con ABCA1 lleva a un eflujo de fosfolípidos y colesterol no esterificado desde cualquier célula incluyendo hepatocitos, enterocitos y macrófagos con la formación de pequeñas partículas HDL discoidales. El eflujo continuo de colesterol y fosfatidilcolina sirve de sustrato a la LCAT para la formación de ésteres de colesterol que se dirigen al centro de la HDL convirtiéndola en una partícula más esférica, que aumenta su tamaño en la medida que gana más colesterol y fosfolípidos (78). En la figura 14 puede verse un esquema de la formación de las HDL.

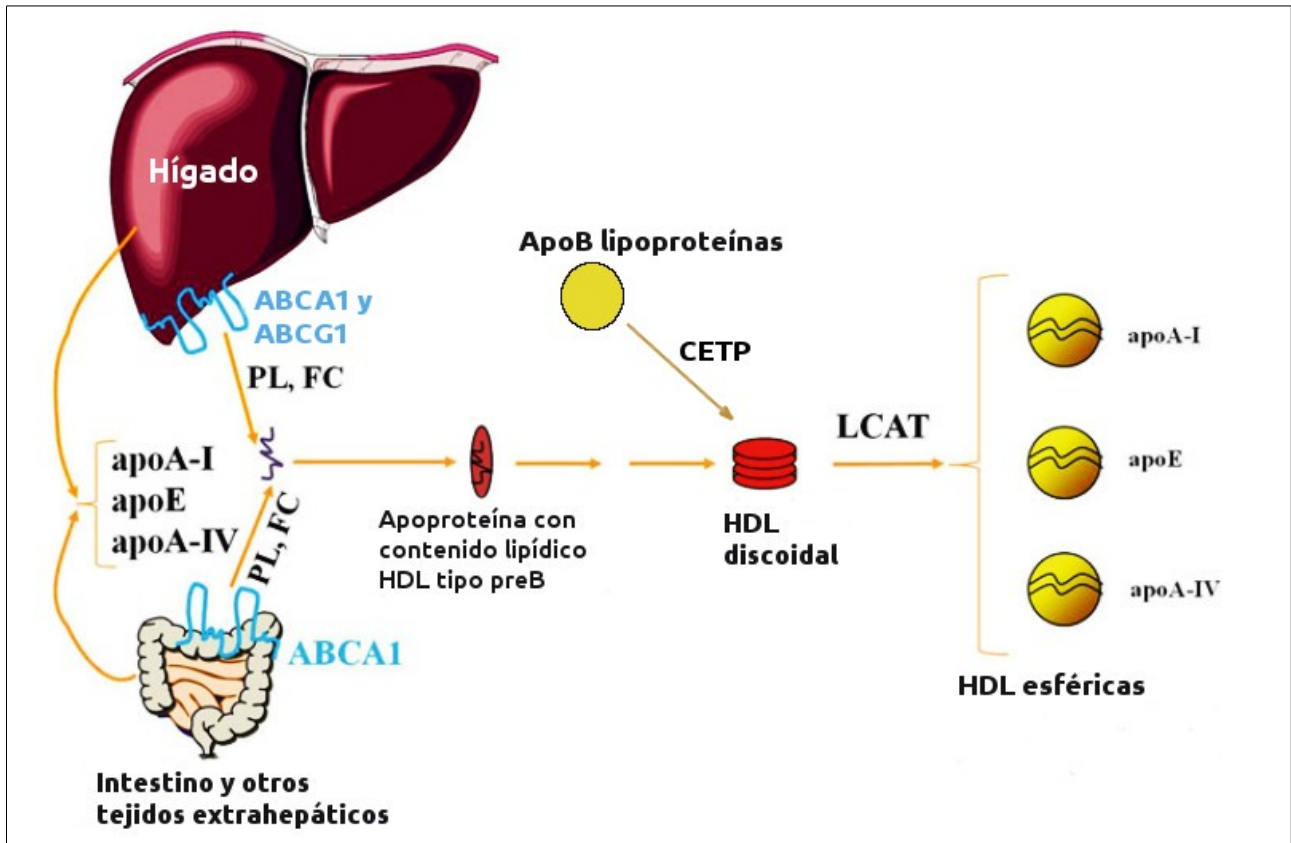


Figura 14. Esquema de formación de las HDL. Tomado de (77).

La HDL tiene un tiempo de “vida” en el plasma de unos 6 días, diferentes enzimas pueden remodelar la HDL y modificar la velocidad de su catabolismo, por ejemplo, la lipasa hepática, lipasa endotelial, CETP, etc. La proteína SR-B1 es una glicoproteína transmembrana que se expresa fundamentalmente en el hígado, aunque también en las células endoteliales y su propiedad más importante es su habilidad para actuar como receptor de HDL. Cuando la HDL se une al receptor SR-B1 se produce la captación de ésteres de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y vitamina E desde la HDL a las células hepáticas (77).

Como se puede deducir del párrafo anterior, el catabolismo de las HDL difiere del catabolismo de las LDL, debido a que sólo una pequeña proporción de las HDL serán eliminadas como holopartículas captadas al interior de las células (79,80). La dos vías mejor conocidas de catabolismo de las HDL es a través del efecto de las CETP y de la SR-

DISCUSIÓN

B1, así como también la lipólisis de triglicéridos y fosfolípidos por la lipasa hepática y la lipasa endotelial, respectivamente, lo cual lleva a la conversión de HDL₂ en HDL₃ como también en la formación de pre-β₁-HDL. El resultado del catabolismo de las HDL genera apoA libres de lípidos o con escasa cantidad de ellos y vuelve a iniciar el ciclo al poder volver a generar HDL maduras a través del proceso de la ABCA1 (78) o ser filtradas por el glomérulo renal que posteriormente, en el túbulo renal, la apoA1 puede ser endocitada por los receptores de cubilina y megalina con posterior degradación lisosomal (81). En la figura 15 se aprecia un esquema general de metabolismo de las HDL.

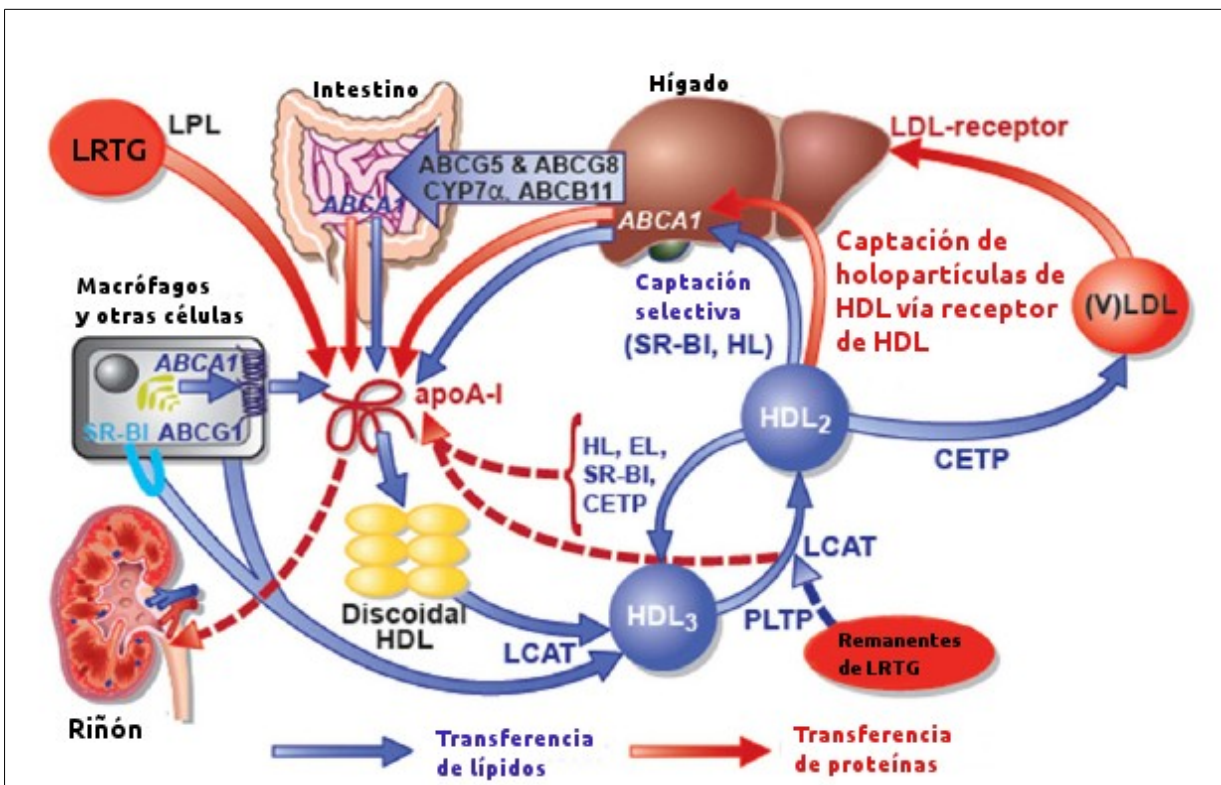


Figura 15. Metabolismo general de las HDL. LRTG: lipoproteínas ricas en triglicéridos. Para otras abreviaturas ver texto. Tomado de (78).

La importancia de la HDL radica en su significativa relación inversa e independiente con el riesgo de arteriosclerosis (82,83), no obstante, últimamente se ha cuestionado si el cHDL es un espectador inocente o realmente un mediador de la arteriosclerosis (84).

DISCUSIÓN

Debido a los progresos en el conocimiento de la HDL se ha ido cambiando el foco de atención desde el valor de la variación de los niveles plasmáticos de cHDL hacia las alteraciones en la composición y función de la HDL, esta nueva comprensión viene liderada por los resultados negativos en estudios de intervención y de aleatorización mendeliana (77), de hecho actualmente se ensayan novedosos agentes terapéuticos que imitan la estructura natural de las HDL o replican varias de sus funciones, por ejemplo, el transporte reverso del colesterol, la vasodilatación, efectos antiinflamatorios o inhibición de la agregación plaquetaria (82), potenciado además por la falta de nuevas terapéuticas dirigidas a modificar los niveles de cHDL(85). La evidencia que indica que los procesos inflamatorios agudos o crónicos inducen modificaciones en las HDL aumenta continuamente, dichas modificaciones afectan la función de las HDL en cuanto a la homeostasis lipídica y las propiedades antiinflamatorias e incluso las puede convertir en complejos moleculares proinflamatorios (77).

Las HDL en individuos sanos pueden ejercer diversos efectos protectores sobre la pared vascular, en particular sobre las células endoteliales (figura 16) (78). La HDL puede estimular la liberación de óxido nítrico e incrementar la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa, puede suprimir la expresión de moléculas de adhesión, puede ejercer un efecto antitrombótico debido a que reduce factores de expresión tisular en las células endoteliales expuestas a citoquinas y con ello es capaz de reducir la activación plaquetaria (78).

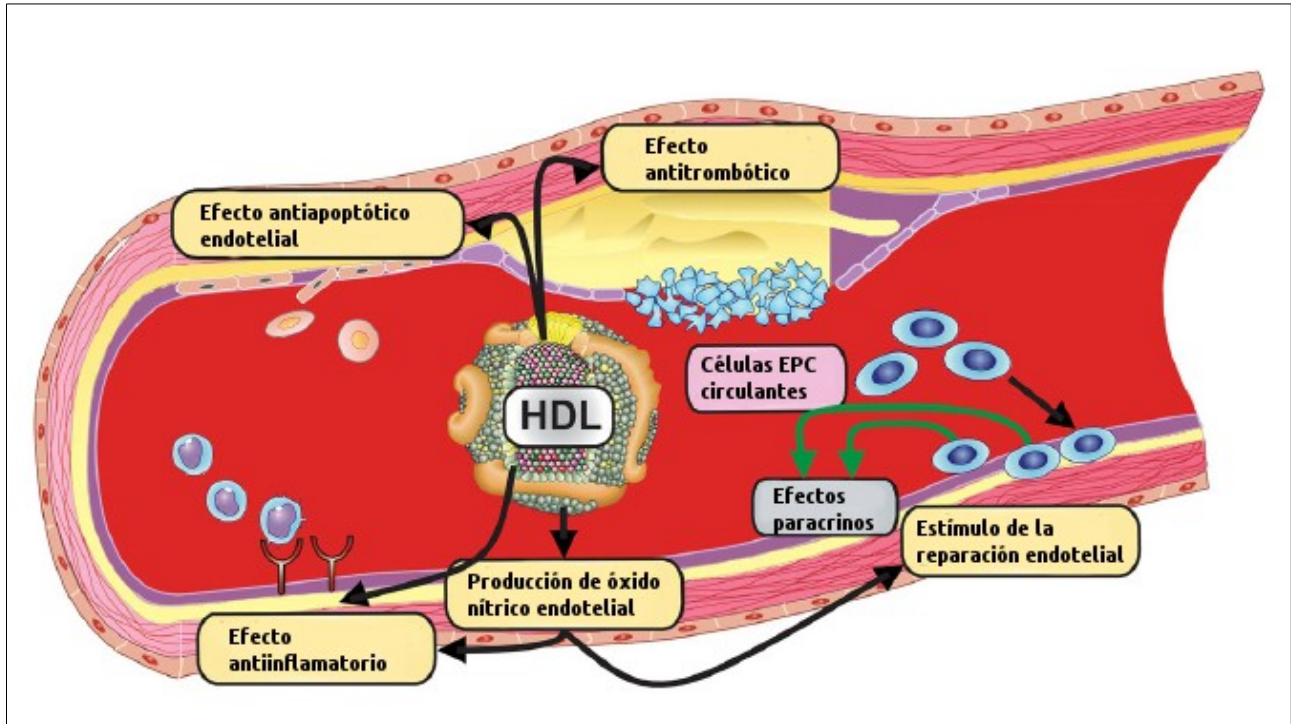


Figura 16. Efecto protectores directos y potencialmente antiaterogénicos vasculares de las HDL. EPC: Células progenitoras endoteliales. Tomado de (78).

Los procesos infecciosos y/o inflamatorios generan una respuesta de fase aguda, llevando a cambios importantes que afectan el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas resultando en aumento de los triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad. Los reactantes de fase aguda también inducen cambios en la función de las HDL con reemplazo de las apoA1 por amiloide sérico A (SAA), ceruloplasmina y haptoglobina, por ejemplo, el SAA puede llegar a constituir el 87% de las proteínas en las HDL, transformando estas HDL en lipoproteínas proinflamatorias, además de que los reactantes de fase aguda pueden inducir cambios post-translacionales como la cloración, nitración y carbamilación de aminoácidos por la mieloperoxidasa, oxidación y glicosilación, todo lo cual compromete la función de la HDL (77).

Se considera que la HDL puede formar parte del sistema inmune innato y tener propiedades antimicrobianas protegiendo a los mamíferos contra infecciones por *Trypanosoma brucei*, *Escherichia coli*, y *Klebsiella pneumoniae*, gracias a la presencia de

DISCUSIÓN

de moléculas como la ApoA1, ApoL1 y haptoglobina (77). El sistema inmune adaptativo también se puede ver influido por la HDL, este es el caso de los linfocitos B y T, cuyos receptores de membrana se encuentran sumergidos en una “balsa” de lípidos y su actividad se afecta por la composición y estructura de estos lípidos (77). En la figura 17 se aprecia el efecto de las HDL en la inmunidad adaptativa (86) y en la figura 18 se aprecia un resumen de los efectos de las HDL sobre el sistema inmune en general.

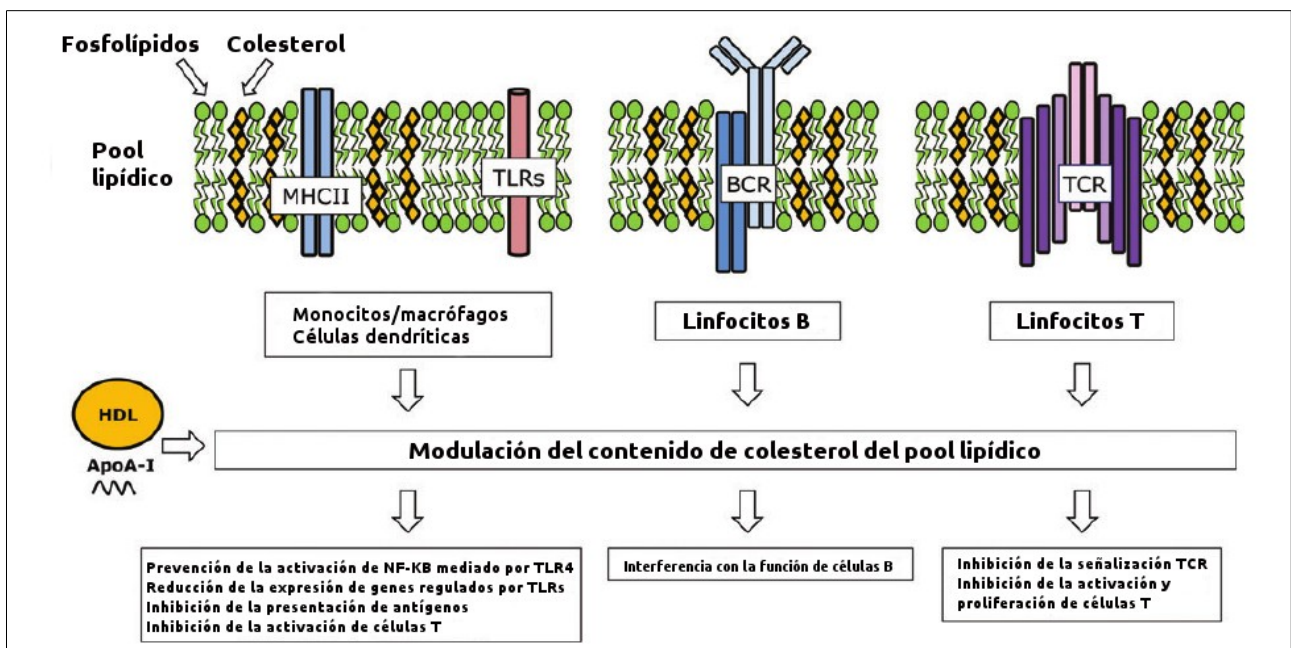


Figura 17. Efecto de la HDL en la inmunidad adaptativa. Tomado de (86).

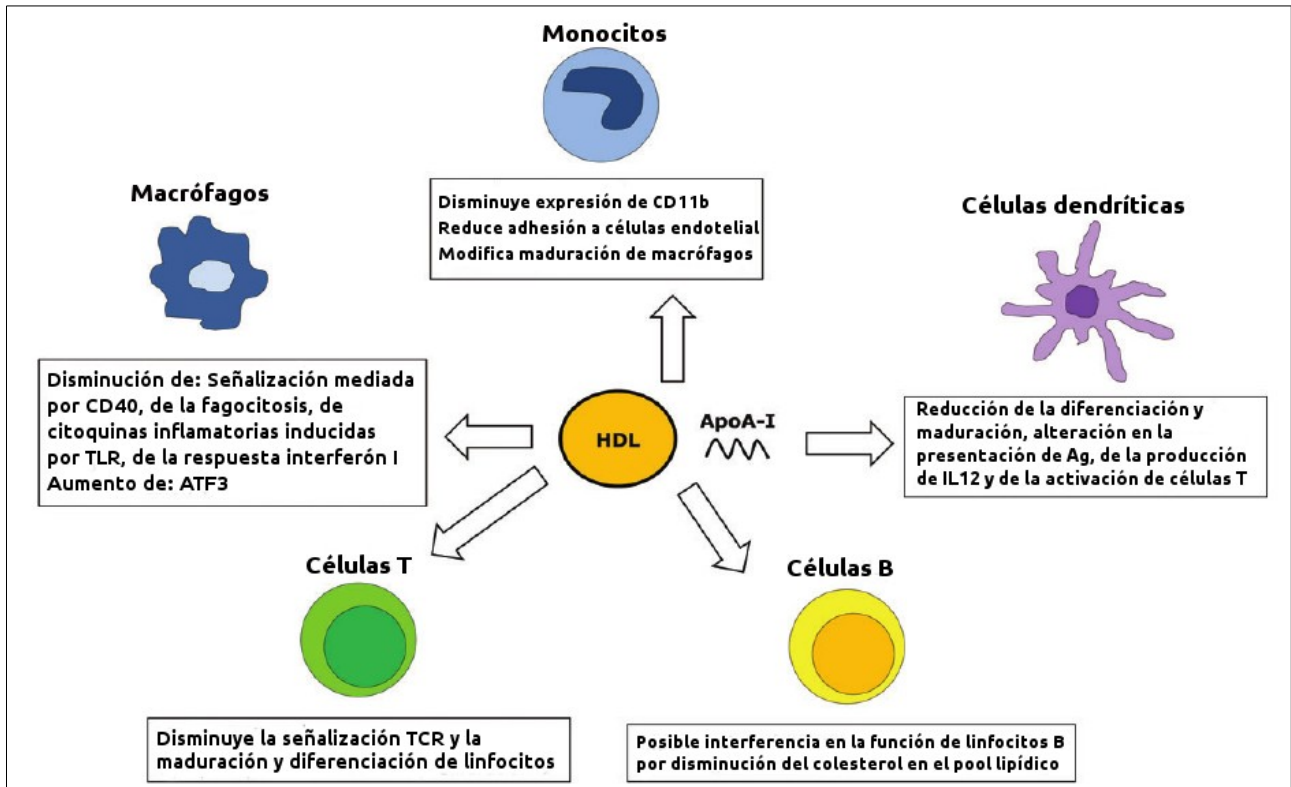


Figura 18. Efecto de las HDL en el sistema inmune en general. Tomado de (86).

En sujetos con LES se ha descrito, aunque no unánime, una reducción de los niveles plasmáticos de HDL, pero la modificación proaterogénicas más importante es la transformación de las HDL en moléculas proinflamatorias que pueden ser detectadas hasta en el 45% de estos sujetos y se correlaciona con LDL oxidadas, placas de ateroma en carótidas y aumento del grosor íntima-media carotídeo (medido por ecografía). Las HDL proinflamatorias se caracterizan por disminución de paroxonasa y de apoA1 y aumento de los niveles de SAA, con lo cual se consigue incrementar la oxidación de las LDL, la activación/atracción de monocitos, producción de anticuerpos antiLDL oxidadas y la formación de inmunocomplejos (77).

En la AR con actividad inflamatoria se modifica el perfil lipídico, como en el LES, se ha descrito una reducción de los niveles de cHDL, cuyo significado no está bien aclarado. Por otra parte se ha encontrado una disminución paralela de las LDL que se correlaciona inversamente con la enfermedad cardiovascular en estos pacientes (paradoja lipídica de

DISCUSIÓN

la AR) (77). El tratamiento con fármacos biológicos anti-TNF ha demostrado controlar la inflamación y reducir el número de eventos cardiovasculares, sin embargo, estos beneficios cardiológicos no parecen deberse a cambios cuantitativos en el perfil lipídico (87), no obstante, en casos tratados con tofacitinib o con tocilizumab se aprecia un aumento de los niveles de cHDL y cLDL a diferencia de los tratados con antiTNF (88). Se han descrito modificaciones en la composición de las HDL en sujetos con AR: aumento de SAA, apoJ, fibrinógeno y haptoglobina y disminución de paroxonasa (77). En conclusión, en sujetos con enfermedades autoinmunes, LES y AR, se alteran el transporte reverso del colesterol, las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de las HDL (77).

En la muestra estudiada no podemos plantear que la disminución del cHDL encontrado en sujetos AMA/ASMA positivos puedan deberse a un proceso inflamatorio subclínico en la vías biliares con efecto sistémico o al menos nuestros datos no apuntan a este contexto puesto que la PCR se comportó de forma similar independientemente de la presencia/ausencia de autoAc de vías biliares, así como tampoco es un fenómeno inmunitario sistémico pues la presencia de ANA no modificó el perfil lipídico en los sujetos estudiados, sin embargo, más bien parece un fenómeno local a nivel de las vías biliares-hígado. Otro elemento a tener en cuenta es la titulación del ANA, que como se verá más adelante sí demostró relación con los niveles de PCR.

De manera que planteamos que la reducción de las HDL en sujetos con AMA/ASMA positivos con respecto a los AMA/ASMA negativos puede deberse a una inflamación relacionada con la titulación del ANA, más que con su presencia o ausencia. Otra hipótesis es que teniendo en cuenta que SR-B1 es fundamental para el control y composición de las HDL plasmáticas y a su vez es importante para la transferencia de ésteres de colesterol de las HDL al hígado y su consiguiente incorporación a la bilis por

excreción (77), nos inclinamos a pensar que en sujetos con AMA/ASMA positivos puede haber un incremento de la función de SR-B1, y por consiguiente una reducción plasmática del cHDL, secundario a discretas alteraciones subclínicas de la síntesis o excreción de ácidos biliares por la presencia de estos autoAc.

En nuestro estudio hemos encontrado dos grupos de resultados que no consideramos significativos desde el punto de vista biológico aunque lo hayan sido estadísticamente. El primero de ellos es la diferencia de niveles de GPT en sujetos con hipercolesterolemia primaria con ANA positivos vs negativos (tabla 7), valoramos que estas diferencias se producen dentro de rangos estrictamente normales de los valores plasmáticos de estas enzimas hepáticas por lo que biológicamente no tienen significación. Otro de los resultados sin significación biológica es la relación encontrada entre PCR y apoE: fenotipo E3/E3 en casos con niveles más altos de PCR.

Inflamación subclínica y arteriosclerosis

La inflamación juega un papel fundamental en el proceso arteriosclerótico, se han identificado numerosos biomarcadores para detectar sujetos con alto riesgo de enfermedad arteriosclerótica, por ejemplo, el fibrinógeno, el inhibidor del activador del plasminógeno, marcadores de agregación plaquetaria y marcadores de respuesta inflamatoria crónica. En este último grupo tenemos la PCR, que es un reactante de fase aguda y sus niveles están determinados fundamentalmente por la producción hepática (89). Diferentes estudios demuestran su influencia directa en el proceso aterogénico, por ejemplo, produciendo disfunción endotelial, pero otros estudios que utilizan aleatorización mendeliana no le dan un valor patogénico en la arteriosclerosis (89). A pesar de esta discrepancia recientemente demostrada, desde hace varios años se conoce la fuerte asociación entre los niveles de PCR y el riesgo cardiovascular tanto en sujetos

DISCUSIÓN

en prevención primaria como en prevención secundaria (89,90).

Considerando la variable ANA como dicotómica no encontramos diferencias en las variables estudiadas (tabla 9), como tampoco dividiendo los ANAs en tertiles (tabla 10). La PCR en todos los casos no mostró diferencias significativas. Sin embargo, al dividir la muestra según niveles de PCR (tiles de PCR) encontramos que en aquellos sujetos con mayores cifras de PCR tenían niveles de colesterol, triglicéridos, cLDL, etc, más elevados (datos no mostrados en tablas) lo cual es conocido en la literatura (91), por otro lado, y no descrito en la literatura consultada, encontramos dos grupos de sujetos: aquellos con menor nivel de PCR, tenían menor titulación de ANA y aquellos con mayores niveles de PCR tenían mayores titulaciones de ANA (tablas 13, 14, 15). Estos resultados nos llevaron a plantearnos que en aquellos sujetos con PCR más elevadas tenían estados de autoinmunidad más significativos e inflamación, expresados por titulaciones más altas de ANA que aunque no se modificara cuantitativamente el perfil lipídico si producía más inflamación sistémica. Por tanto, parecía existir una correlación entre titulaciones de ANA y tertiles de PCR, lo cual nos sugería que estos sujetos podrían tener evidencias de arteriosclerosis subclínica más significativas.

Como parte del análisis realizado, se dividió la muestra en dos grupos: aquellos con autoAc positivos (casos) y controles con autoAc negativos y se evaluaron mediciones del grosor íntima-media en diferentes zonas carotídeas. No se necesitó ajustar el análisis por edad y colesterol, que son variables que modifican el GIM, porque sus valores fueron similares (sin diferencias estadísticas) en los grupos estudiados.

La valoración de las propiedades estructurales y funcionales arteriales como predictor de riesgo aterosclerótico y para mejorar la estratificación del riesgo coronario más allá de los factores de riesgo tradicionales, han sido ampliamente utilizados, incluso en

DISCUSIÓN

sujetos asintomáticos (92,93). El incremento del GIM predice el riesgo de eventos cardiovasculares (68,94) y con mayor capacidad predictiva para los eventos isquémicos cerebrovasculares comparado con los eventos coronarios (95). No obstante, la reducción de este grosor por la intervención terapéutica no ha reflejado una reducción de los eventos cardiovasculares (96).

En sujetos con LES la prevalencia de arteriosclerosis coronaria, medido por calcificación coronaria usando tomografía, es mayor que en sujetos sin LES y es independiente de los factores de riesgo tradicionales (97,98), esta afirmación ha sido demostrada con posterioridad y se plantea que los sujetos con LES tienen entre 9-50 veces más riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular comparado con sujetos sin LES, siendo la principal causa de morbilidad en pacientes con lupus. La activación del complemento, mediadores inflamatorios como citoquinas y leucocitos, el interferón, la hidrólisis enzimática, el estrés oxidativo, el factor de crecimiento endotelial, los receptores *toll*, entre otros son los mecanismos y actores que favorecen el desarrollo de arteriosclerosis en estos sujetos (99).

Por su parte los sujetos con AR tienen una mayor prevalencia de los factores de riesgo tradicionales y tienen un 68% más de riesgo de desarrollar infarto cardiaco (100) que la población general, persistiendo este aumento del riesgo aún cuando el análisis se ajusta para los factores de riesgo coronario tradicionales (100,101). Las Recomendaciones EULAR (102) para la valoración del riesgo cardiovascular en sujetos con AR propone la aplicación de modelos de valoración de riesgo, por ejemplo, tipo Framingham, en ese mismo sentido, EULAR recomienda especial atención a los sujetos con AR de larga evolución (más de 10 años), positividad del factor reumatoide o de los anticuerpos anti-PCC y aquellos con presencia de manifestaciones extraarticulares (102).

DISCUSIÓN

La aparición de autoAc en población sana no es infrecuente y en algunos casos evolucionan, con los años, a enfermedad clínica, otros se mantienen sin mostrar evidencias de enfermedad (103). Se ha utilizado el término “autoinmunidad benigna” para describir la fase inicial de aparición de autoAc en individuos libres de enfermedad: anti-PCC o FR sin criterios de AR, presencia de ANA sin criterios de LES (Figura 19) (103).

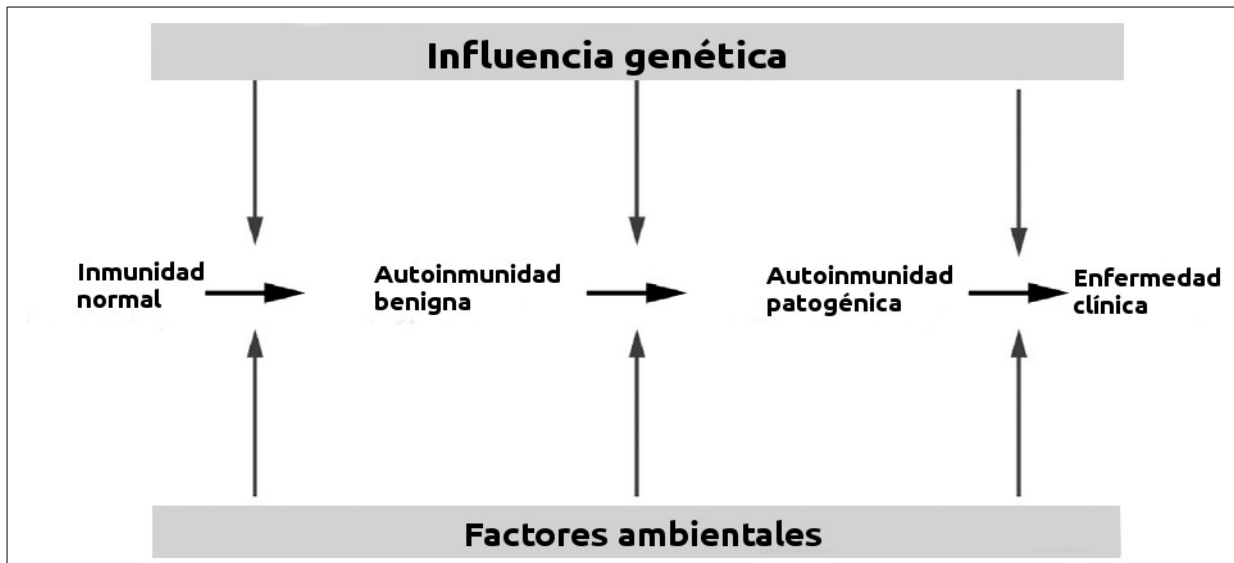


Figura 19. Esquema de la evolución desde la aparición de autoanticuerpos hasta la aparición de enfermedad y su influencia genética y ambiental. Tomado de (103).

El incremento de la prevalencia de enfermedad cardiovascular en las enfermedades reumáticas como la AR y el LES, así como el incremento de la patología arteriosclerótica en sujetos con enfermedad reumática y autoAc sugiere que la arteriosclerosis tiene un componente autoinmune (103). La enfermedad cardíaca isquémica está asociada a FR positivo o a presencia de anti-PCC en individuos sin AR, incluso, en sujetos (afroamericanos y mujeres blancas) sin enfermedad coronaria, la presencia de calcio coronario es más frecuente en aquellos sujetos con autoAC relacionados con AR (103). Existe asociación entre la presencia de ANA y la enfermedad cardiovascular en sujetos con LES, de hecho la sola presencia del ANA se ha asociado con aumento del riesgo de infarto cardíaco, independientemente del diagnóstico de LES, los anticuerpos anti-PCC

DISCUSIÓN

se comportan de forma similar con respecto a la presencia de placas carotídeas medidas por ecografía o eventos cardiovasculares clínicos (103). Los posibles mecanismos para la asociación entre estos autoAc, sin enfermedad clínica y la arteriosclerosis puede estar relacionada con el efecto protrombótico de dichos autoAc, el incremento de la oxidación de las LDL y la inflamación en general (103).

La asociación entre los autoAc de enfermedades reumáticas con arteriosclerosis clínica o subclínica en sujetos sin enfermedad reumática hace sospechar que la presencia de estos autoAc no sólo predisponen para la aparición de enfermedad autoinmune sino también para el desarrollo de enfermedad aterosclerótica en sujetos libres de enfermedad autoinmune.

Como se había planteado anteriormente, en la muestra estudiada parece haber una relación entre las cifras (titulaciones de ANA) y los niveles de PCR (cuartiles, tertiles). El análisis del GIM carótideo en el grupo de casos no mostró diferencias significativas en ninguna de las variables ecográficas independientemente de si habían autoAc positivos o negativos (tabla 16). Esto puede deberse a que el añadido inflamatorio que puede aportar la presencia de títulos elevados de ANA se diluye o queda escondido por la presencia de hipercolesterolemia como determinante del GIM.

Sin embargo, si separamos los sujetos con autoAc positivos y a su vez los dividimos en tertiles de PCR obtenemos que al menos 3 variables ecográficas muestran diferencias significativas entre los tertiles de PCR (tabla 17), expresando que los sujetos con autoAc positivos pueden presentar cifras de las mediciones ecográficas progresivamente mayores en la medida que tienen PCR más altos. Estos resultados están refrendados por la correlación existente entre las variables ecográficas y la PCR (tabla 18), aunque estos resultados deben verse con cautela pues la n sobre la que basamos estas conclusiones es

muy baja.

Con los datos anteriores se extendió (extensión I) el análisis a todos los sujetos de la muestra según los resultados de los autoAc y tampoco se encontraron diferencias significativas según tertiles de PCR y cHDL, consideramos que se debe a la dilución del efecto de los autoAc por la presencia de hipercolesterolemia. Seguidamente analizamos (extensión II) el comportamiento de las variables ecográficas en el grupo de casos según tertiles de PCR y sin valorar el resultado de los autoAc; en este análisis obtuvimos resultados significativos para la variable ACCIMd (tabla 19), lo cual demuestra que existe una vinculación entre inflamación y arteriosclerosis en nuestra muestra de casos. Finalmente el mismo análisis anterior se extendió a toda la muestra, encontrando diferencias significativas en un mayor número de variables ecográficas (tabla 20) apoyando la hipótesis de que la inflamación es el mecanismo por el cual los autoAc pueden aumentar la arteriosclerosis subclínica, medida por ecografía carotídea, en sujetos con autoinmunidad subclínica.

Conclusiones

1. La prevalencia de los anticuerpos antinucleares, antimitocondriales y antimúsculo liso en sujetos con fenotipo de hipercolesterolemia primaria sin mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E es del 7,36%, 0,98%, 0% para anticuerpos antinucleares, anticuerpos antimitocondriales y anticuerpos antimúsculo liso, respectivamente.
2. Los niveles de pANCA no mostraron diferencias entre los casos y los controles y todos los resultados fueron normales.
3. La proporción de autoanticuerpos en un grupo de sujetos con fenotipo hipercolesterolemia primaria sin mutaciones en el gen del receptor de LDL, en el gen de la apolipoproteína B, el gen PCSK9 y en el gen de la apolipoproteína E y en el grupo control fueron similares.
4. El fenotipo lipídico de los sujetos con autoinmunidad positiva (ANA positivo) no se modifica con respecto a la población normal, pero los sujetos con autoanticuerpos relacionados con la vía biliar (AMA, ASMA) se caracteriza por una concentración de cHDL y de apoA1 más bajas que los sujetos sin estos autoanticuepos.
5. La concentración plasmática de PCR es mayor en sujetos con hiperlipemias primarias que en el grupo control.
6. La concentración plasmática de PCR no está aumentada en sujetos con autoanticuerpos (anticuerpos antinucleares) positivos con respecto a controles, pero parece existir una relación entre niveles de PCR y titulación de los anticuerpos antinucleares: a mayor título de anticuerpos antinuclear, mayor concentración plasmática de PCR.

CONCLUSIONES

7. La arteriosclerosis subclínica medida por ecografía carotídea se asoció con la concentración de PCR tanto en casos como en toda la muestra y en el grupo de sujetos con autoanticuerpos positivos se relacionó con los tertiles de PCR.

Referencias bibliográficas

1. Abbas KA, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología básica. Funciones y trastornos del sistema inmunitario. 4ªEd ed. Barcelona: Elsevier Saunders; 2014.
2. Johnston RB, Stiehm RE, Feldweg AM. An overview of the innate immune system. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
3. Nigrovic PA, Stiehm RE, Sheldon KL, Tepas E. Periodic fever syndromes and other autoinflammatory diseases: An overview. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
4. Goldfinger SE, Friedman LS, Grover SH. Clinical manifestations and diagnosis of familial Mediterranean fever. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
5. Bonilla FA, Stiehm ER, Tepas E. The adaptive cellular immune response. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
6. Bonilla FA, Stiehm ER, Feldweg AM. The humoral immune response. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. Rose NR, Schur PH, Romain PL. Overview of autoimmunity. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
8. Cho JH, Gregersen PK. Genomics and the Multifactorial Nature of Human Autoimmune Disease. *N Engl J Med.* 2011;365(17):1612–23.
9. Gladman DD, Pisetsky DS, Ramírez-Curtis M. Overview of the clinical manifestation of systemic lupus erythematosus in adults. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
10. López-Longo FJ. Significado clínico de los autoanticuerpos en las enfermedades reumáticas. En: Rúa-Figueroa Fernández de Larrinoa I, Calvo Alén J, Cuadrado Lozano MJ, Freire González MM, Marínez Taboada VM, Muñoz Fernández S, Úcar Angulo E. *Manual SER de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas.* 1ª de. Barcelona: Elsevier España, S.L.; 2014. p. 9-15.
11. Bloch DB, Shmerling RH, Ramírez-Curtis M. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 29 de marzo de 2015).
12. Schur PH, Hahn BH, Pisetsky DS, Ramírez-Curtis M. Epidemiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate,

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
13. Villa-Blanco I, Calvo Alén J. Lupus eritematoso sistémico. En: Alperi López M, Balsa Criado A, Blanco Alonso R, Hernández Cruz B, Medina Luezas J, Muñóz Fernández S, Nolla Solé JM, Román Iborra JA. Manual SER de enfermedades reumáticas. 6ª ed. Barcelona: Elsevier España, S.L.; 2014. p. 335-347.
 14. Tsokos G. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2011;365(22):2110–21.
 15. Pablos Álvarez JL. Artiritis reumatoide. En: Alperi López M, Balsa Criado A, Blanco Alonso R, Hernández Cruz B, Medina Luezas J, Muñóz Fernández S, Nolla Solé JM, Román Iborra JA. Manual SER de enfermedades reumáticas. 6ª ed. Barcelona: Elsevier España, S.L.; 2014. p. 217-230.
 16. Firestein GS, Ravinder NM, Romain PL, . Pathogenesis of rheumatoid arthritis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 30 de abril de 2015).
 17. Nagashima T, Okazaki H, Yudoh K, Matsuno H, Minota S. Apoptosis of rheumatoid synovial cells by statins through the blocking of protein geranylgeranylation: A potential therapeutic approach to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(2):579–86.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

18. Ma X, Xu S. TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis. *Biomed rep.* 2013;1(2):177–84.
19. Rossi D, Modena V, Sciascia S, Roccatello D. Rheumatoid arthritis: Biological therapy other than anti-TNF. *Int Immunopharmacol.* 2015;27(2):185-8.
20. Hueber W, Patel DD, Dryja T, Wright AM, Koroleva I, Bruin G, Antoni C, Draelos Z, Gold MH; Psoriasis Study Group, Durez P, Tak PP, Gomez-Reino JJ; Rheumatoid Arthritis Study Group, Foster CS, Kim RY, Samson CM, Falk NS, Chu DS, Callanan D, Nguyen QD; Uveitis Study Group, Rose K, Haider A, Di Padova F. Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis, and uveitis. *Sci Transl Med.* 2010;2(52):52ra72.
21. Mok CC. Rituximab for the treatment of rheumatoid arthritis: an update. *Drug Des Devel Ther.* 2013;8:87–100.
22. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2205–19.
23. Poupon R, Lindor KD, Travis AC. Clinical manifestations, diagnosis, and natural history of primary biliary cirrhosis. En: *UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 10 de febrero de 2015).*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

24. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ; American Association for Study of Liver Diseases. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2009;50(1):291–308.
25. Kim WR, Lindor KD, Locke GR 3rd, Therneau TM, Homburger HA, Batts KP, Yawn BP, Petz JL, Melton LJ 3rd, Dickson ER. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology*. 2000;119(6):1631–6.
26. Gershwin ME, Runyon BA, Travis AC. Pathogenesis of primary biliary cirrhosis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 10 de febrero de 2015).
27. Poupon R, Lindor KD, Travis AC. Overview of the treatment of primary biliary cirrhosis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 24 de junio de 2015).
28. Kowdley KV, Angulo P, Travis AC. Primary sclerosing cholangitis: Epidemiology and pathogenesis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 28 de marzo de 2015).
29. Kowdley KV, Lindor KD, Travis AC. Primary sclerosing cholangitis in adults: Clinical manifestations and diagnosis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 24 de junio de 2015).

30. Kowdley KV, Lindor KD, Travis AC. Primary sclerosing cholangitis in adults: Management. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 24 de junio de 2015).
31. Yamagiwa S, Kamimura H, Takamura M, Aoyagi Y. Autoantibodies in primary biliary cirrhosis: recent progress in research on the pathogenetic and clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2014;20(10):2606–12.
32. van Milligen de Wit AW, van Deventer SJ, Tytgat GN. Immunogenetic aspects of primary sclerosing cholangitis: implications for therapeutic strategies. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(6):893–900.
33. Liberal R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Clinical significance of autoantibodies in autoimmune hepatitis. *J Autoimmun.* 2013;46:17–24.
34. Flamm S, Kaplan AA, Poupon R, Chopra S, Lindor K, Travis AC. Hypercholesterolemia and atherosclerosis in primary biliary cirrhosis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 28 de marzo de 2015).
35. Allocca M, Crosignani A, Gritti A, Ghilardi G, Gobatti D, Caruso D, Zuin M, Podda M, Battezzati PM. Hypercholesterolaemia is not associated with early atherosclerotic

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- lesions in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 2006;55(12):1795–800.
36. Su TC, Hwang JJ, Kao JH. Hypercholesterolemia in primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2007;357(15):1561–2.
37. Balmer ML, Dufour J-F. Treatment of hypercholesterolemia in patients with primary biliary cirrhosis might be more beneficial than indicated. *Swiss Med Wkly*. 2008;138(29-30):415–9.
38. Williamson KD Chapman RW. Primary sclerosing cholangitis. *Dig Dis*. 2014;32(4):438–45.
39. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1795–803.
40. Fisher EA, Feig JE, Hewing B, Hazen SL, Smith JD. High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(12):2813–20.
41. Sinakos E, Abbas G, Jorgensen RA., Lindor KD. Serum lipids in primary sclerosing cholangitis. *Dig Liver Dis*. 2012;44(1):44–8.
42. Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clinical diagnosis, management, and emerging therapies. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(19):1935–47.
43. Qi Y, Jiang C, Cheng J, Krausz KW, Li T, Ferrell JM, Gonzalez FJ, Chiang JY. Bile acid signaling in lipid metabolism: Metabolomic and lipidomic analysis of lipid and bile acid markers linked to anti-obesity and anti-diabetes in mice. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1851(1):19–29.
44. Enjoji M, Yada R, Fujino T, Yoshimoto T, Yada M, Harada N, Higuchi N, Kato M, Kohjima M, Taketomi A, Maehara Y, Nakashima M, Kotoh K, Nakamura M. The state of cholesterol metabolism in the liver of patients with primary biliary cirrhosis: The role of MDR3 expression. *Hepatol Int.* 2009;3(3):490–6.
45. Cenarro A, de Castro-Orós I, Cviveira F. Hipercolesterolemias genéticas. *Medicine (Baltimore).* 2013;11(40):2396–401.
46. Pejic Rade N. Familial hypercholesterolemia. *Ochsner J.* 2014;14(4):669–72.
47. Klose G, Laufs U, März W, Windler E. Familial Hypercholesterolemia : Developments in Diagnosis and Treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2014;111(31-32):523-92014.
48. Vogt A. The genetics of familial hypercholesterolemia and emerging therapies. *Appl Clin Genet.* 2015;28(8):27–36.

49. Civeira F, Castillo S, Alonso R, Meriño-Ibarra E, Cenarro A, Artied M, Martín-Fuentes P, Ros E, Pocoví M, Mata P; Spanish Familial Hypercholesterolemia Group. Tendon Xanthomas in Familial Hypercholesterolemia Are Associated With Cardiovascular Risk Independently of the Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(9):1960–5.
50. Al-Rasadi K, Al-Waili K, Al-Sabti HA, Al-Hinai A, Al-Hashmi K, Al-Zakwani I, Banerjee Y. Criteria for diagnosis of familial hypercholesterolemia: A comprehensive analysis of the different guidelines, appraising their suitability in the Omani Arab population. *Oman Med J.* 2014;29(2):85–91.
51. Palacios L, Grandoso L, Cuevas N, Olano-Martín E, Martínez A, Tejedor D, Stef M. Molecular characterization of familial hypercholesterolemia in Spain. *Atherosclerosis.* 2012;221(1):137–42.
52. Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, Artieda M, Alonso R, Mata P, Simón L, Martínez A, Pocoví M; Spanish FH Group. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem.* 2005;51(7):1137–44.
53. Mozas P, Castillo S, Tejedor D, Reyes G, Alonso R, Franco M, Saenz P, Fuentes F, Almagro F, Mata P, Pocoví M. Molecular characterization of familial

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- hypercholesterolemia in Spain: identification of 39 novel and 77 recurrent mutations in LDLR. *Hum Mutat.* 2004;24(2):187.
54. Meriño-Ibarra E, Castillo S, Mozas P, Cenarro A, Martorell E, Díaz JL, Suárez-Tembra M, Alonso R, Civeira F, Mata P, Pocoví M; Spanish Group of Familial Hypercholesterolemia. Screening of APOB gene mutations in subjects with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Hum Biol.* 2005;77(5):663–73.
55. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2006;354(12):1264-72.
56. Stef MA, Palacios L, Olano-Martín E, Foe-A-Man C, van de Kerkhof L, Klaaijzen LN, Molano A, Schuurman EJ, Tejedor D, Defesche JC. A DNA microarray for the detection of point mutations and copy number variation causing familial hypercholesterolemia in Europe. *J Mol Diagn.* 2013;15(3):362–72.
57. Wang J, Joy T, Mymin D, Frohlich J, Hegele RA. Phenotypic heterogeneity of sitosterolemia. *J Lipid Res.* 2004;45(12):2361–7.
58. Baila-Rueda L, Mateo-Gallego R, Lamiquiz-Moneo I, Cenarro A, Civeira F. Severe hypercholesterolemia and phytosterolemia with extensive xanthomas in primary biliary cirrhosis: Role of biliary excretion on sterol homeostasis. *J Clin Lipidol.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2014;8(5):520–4.

59. Cenarro A, Artieda M, Gonzalvo C, Meriño-Ibarra E, Arístegui R, Gañán A, Díaz C, Sol JM, Pocoví M, Civeira F; ATOMIX Study Group. Genetic variation in the hepatic lipase gene is associated with combined hyperlipidemia, plasma lipid concentrations, and lipid-lowering drug response. *Am Heart J.* 2005;150(6):1154-62.
60. Meriño Ibarra E, Martín Fuentes P, Civeira Murillo F. Hiperlipemia familiar combinada. Criterios diagnósticos y terapéuticos. *Clín Invest Arterioscler.* 2005;17:52–8.
61. Meriño-ibarra E, Civeira Murillo F. Varón de 49 años remitido para estudio de hiperlipidemia mixta y elevación de transaminasas. *Medicine (Baltimore)* 2004;9(18):1163–5.
62. Meriño-Ibarra E, Puzo J, Jarauta E, Cenarro A, Recalde D, García-Otín AL, Ros E, Martorell E, Pintó X, Franco M, Zambón D, Brea A, Pocoví M, Civeira F. Hyperlipoproteinaemia(a) is a common cause of autosomal dominant hypercholesterolaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(6):970–7.
63. Tabas I, García-Cardena G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol.* 2015;209(1):13–22.

64. Matsuura E, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Turiel M, Lopez LR, Nurmohamed MT. Is atherosclerosis an autoimmune disease? *BMC Med.* 2014;12:47.
65. Poli A, Tremoli E, Colombo A, Sirtori M, Pignoli P, Paoletti R. Ultrasonographic measurement of the common carotid artery wall thickness in hypercholesterolemic patients. A new model for the quantitation and follow-up of preclinical atherosclerosis in living human subjects. *Atherosclerosis.* 1988;70(3):253–61.
66. Lee CJ, Park S. The role of carotid ultrasound for cardiovascular risk stratification beyond traditional risk factors. *Yonsei Med J.* 2014;55(3):551–7.
67. Zhang Y, Guallar E, Qiao Y, Wasserman BA. Is Carotid Intima-Media Thickness as Predictive as Other Noninvasive Techniques for the Detection of Coronary Artery Disease? *Arter Thromb Vasc Biol.* 2014;1341–6.
68. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Engl J Med.* 1999;340(1):14-22.
69. Civeira F, Jarauta E, Meriño-Ibarra E. Evaluación de la aterosclerosis en la práctica clínica a través de la medida del grosor íntima-media carotídeo. *Rev Clin Esp.*

2006;206 Supl 3:1-7.

70. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration on low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;(18):499–502.
71. Solanas-Barca M, de Castro-Orós I, Mateo-Gallego R, Cofán M, Plana N, Puzo J, Burillo E, Martín-Fuentes P, Ros E, Masana L, Pocoví M, Civeira F, Cenarro A. Apolipoprotein E gene mutations in subjects with mixed hyperlipidemia and a clinical diagnosis of familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2012;222(2):449–55.
72. Rodríguez Mahou M. Autoanticuerpos en las enfermedades autoinmunes sistémicas. 1ª ed. Madrid: Ergon; 2012.
73. Berrocal Garcia B, Talaván T, González C, González de Buitrago JM. Manual de enfermedades autoinmunitarias y autoanticuerpos. 1ª ed. Barcelona: A. Menarini diagnostics; 2006.
74. Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F. Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63(1):97-102.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

75. Rosenson RS, Freeman MW, Gersh BJ, Rind DM. Secondary causes of dyslipidemia. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 4 de octubre de 2015).
76. Vijan S, Freeman MW, Elmore JG, Rind DM. Screening for lipid disorders. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Consultado el 4 de octubre de 2015).
77. Annema W, von Eckardstein A, Kovanen PT. C. HDL and atherothrombotic vascular disease. *Handb Exp Pharmacol.* 2015;224:369-403.
78. Lüscher TF, Landmesser U, von Eckardstein A, Fogelman AM. High-density lipoprotein: vascular protective effects, dysfunction, and potential as therapeutic target. *Circ Res.* 2014;114(1):171–82.
79. Serhan N, Cabou C, Verdier C, Lichtenstein L, Malet N, Perret B, Laffargue M, Martinez LO. Chronic pharmacological activation of P2Y₁₃ receptor in mice decreases HDL-cholesterol level by increasing hepatic HDL uptake and bile acid secretion. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1831(4):719–25.
80. Martinez LO, Jacquet S, Esteve JP, Rolland C, Cabezón E, Champagne E, Pineau T, Georgeaud V, Walker JE, Tercé F, Collet X, Perret B, Barbaras R. Ectopic beta-chain of ATP synthase is an apolipoprotein A-I receptor in hepatic HDL endocytosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nature. 2003;421(6918):75–9.
81. Graversen JH, Castro G, Kandoussi A, Nielsen H, Christensen EI, Norden A, Moestrup SK. A pivotal role of the human kidney in catabolism of HDL protein components apolipoprotein A-I and A-IV but not of A-II. *Lipids*. 2008;43(5):467–70.
82. Subedi BH, Joshi PH, Jones SR, Martin SS, Blaha MJ, Michos ED. Current guidelines for high-density lipoprotein cholesterol in therapy and future directions. *Vasc Health Risk Manag*. 2014;10:205–16.
83. Kratzer A, Giral H, Landmesser U. High-density lipoproteins as modulators of endothelial cell functions: Alterations in patients with coronary artery disease. *Cardiovasc Res*. 2014;103(3):350–61.
84. Haase CL, Tybjaerg-Hansen A, Ali Qayyum A, Schou J, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. LCAT, HDL cholesterol and ischemic cardiovascular disease: A mendelian randomization study of HDL cholesterol in 54,500 individuals. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(2):248–56.
85. Civeira F, Bustamante E, Jarauta E, Meriño-Ibarra E. Lipoproteínas clásicas, terapéuticas modernas. *Farmacología de las lipoproteínas de alta densidad*. *Clín Invest Arterioscler*. 2006;18:10–9.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

86. Catapano AL, Pirillo A, Bonacina F, Norata GD. HDL in innate and adaptive immunity. *Cardiovasc Res.* 2014;103(3):372-83.
87. Daïen CI, Duny Y, Barnetche T, Daurès JP, Combe B, Morel J. Effect of TNF inhibitors on lipid profile in rheumatoid arthritis: a systematic review with meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2012 Jun;71(6):862-8.
88. Souto A, Salgado E, Maneiro JR, Mera A, Carmona L, Gómez-Reino JJ. Lipid profile changes in patients with chronic inflammatory arthritis treated with biologic agents and tofacitinib in randomized clinical trials: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(1):117-27.
89. Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: From improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol;*2013;168(6):5126–34.
90. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, Wood AM, White IR, Gao P, Walker M, Thompson A, Sarwar N, Caslake M, Butterworth AS, Amouyel P, Assmann G, Bakker SJ, Barr EL, Barrett-Connor E, Benjamin EJ, Björkelund C, Brenner H, Brunner E, Clarke R, Cooper JA, Cremer P, Cushman M, Dagenais GR, D'Agostino RB Sr, Dankner R, Davey-Smith G, Deeg D, Dekker JM, Engström G, Folsom AR, Fowkes FG, Gallacher J, Gaziano JM, Giampaoli S, Gillum RF, Hofman A, Howard BV, Ingelsson E, Iso H, Jørgensen T, Kiechl S, Kitamura A, Kiyohara Y, Koenig W, Kromhout D, Kuller LH, Lawlor DA, Meade TW,

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nissinen A, Nordestgaard BG, Onat A, Panagiotakos DB, Psaty BM, Rodriguez B, Rosengren A, Salomaa V, Kauhanen J, Salonen JT, Shaffer JA, Shea S, Ford I, Stehouwer CD, Strandberg TE, Tipping RW, Tosetto A, Wassertheil-Smoller S, Wennberg P, Westendorp RG, Whincup PH, Wilhelmsen L, Woodward M, Lowe GD, Wareham NJ, Khaw KT, Sattar N, Packard CJ, Gudnason V, Ridker PM, Pepys MB, Thompson SG, Danesh J. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med*. 2012 Oct 4;367(14):1310-20.
91. Dobs AS, Nieto FJ, Szklo M, Barnes R, Sharrett AR, Ko WJ. Risk factors for popliteal and carotid wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol*. 1999;150(10):1055–67.
92. Wallace ML, Ricco JA, Barrett B, England TN. Screening strategies for cardiovascular disease in asymptomatic adults. *Prim Care*. 2014;41(2):371-97.
93. Bruno R, Bianchini E, Faita F, Taddei S, Ghiadoni L. Intima media thickness, pulse wave velocity, and flow mediated dilation. *Cardiovasc Ultrasound*. 2014;12(1):34.
94. Naqvi TZ, Lee MS. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk Assessment. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7(10):1025–38.
95. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: A systematic review and

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459–67.
96. Costanzo P, Perrone-Filardi P, Vassallo E, Paolillo S, Cesarano P, Brevetti G, Chiariello M. Does carotid intima-media thickness regression predict reduction of cardiovascular events?: A meta-analysis of 41 randomized trials. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(24):2006–20.
97. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2003;349(25):2399–406.
98. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, Raggi P, Stein CM. Premature Coronary-Artery Atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 2003 Dec 18;349(25):2407-15.
99. Frieri M, Stampfl H. Systemic lupus erythematosus and atherosclerosis: Review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2015;8–13.
100. Avina-Zubieta JA, Thomas J, Sadatsafavi M, Lehman AJ, Lacaille D. Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:1524–9.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

101. del Rincón ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum.* 2001;44(12):2737–45.

102. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, McInnes IB, Haentzschel H, Gonzalez-Gay MA, Provan S, Semb A, Sidiropoulos P, Kitas G, Smulders YM, Soubrier M, Szekanecz Z, Sattar N, Nurmohamed MT. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:325–31.

103. Majka DS, Chang RW. Is preclinical autoimmunity benign?: The case of cardiovascular disease. *Rheum Dis Clin North Am.* 2014;40(4):659–68.

Anexos

Concentraciones séricas de lipoproteína(a) en pacientes cubanos dislipémicos

A. Nasiff-Hadad^a, A. Núñez-Suárez^a, N. Cordero-Rojas^a, R. Simón-Carballo^b, P. Ramos^a y E. Meriño-Ibarra^a

^aGrupo de Dislipidemias y Aterosclerosis. Hospital Hermanos Ameijeiras. La Habana. Cuba.

^bInstituto de Angiología y Cirugía Vascular. La Habana. Cuba.

Objetivo. Determinar las concentraciones de lipoproteína(a) (Lp[a]) en una muestra de población adulta cubana con dislipemia.

Método. Se estudió a 170 pacientes con concentraciones de colesterol total > 6,2 mmol/l y de cLDL > 3,4 mmol/l, y 197 individuos con colesterol < 5,2 mmol/l y triglicéridos < 2,3 mmol/l, como grupo control. Se determinaron las concentraciones de colesterol, triglicéridos, colesterol de alta densidad (cHDL), apolipoproteína B-100 (apo B-100) y Lp(a) y se calculó el cLDL por la fórmula de Friedewald.

Resultados. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,0001$) para la Lp(a) entre pacientes y controles ($54,44 \pm 36,93$ frente a $31,08 \pm 27,79$ mg/dl), diferencias que se mantuvieron para cada sexo por separado. Se demostró una fuerte correlación de la Lp(a) con el cLDL y la apo B-100 y, en menor grado, con el colesterol total sólo en los pacientes dislipémicos. El histograma de frecuencia en los pacientes mostró una tendencia a la desviación hacia la derecha (valores más altos), mientras en los controles, esta desviación a la izquierda. Finalmente, se encontró valor promedio de Lp(a) más elevado en el subgrupo de individuos hipertriglicéridémicos, al compararlo con los normotriglicéridémicos.

Conclusiones. La muestra de población cubana analizada presentó concentraciones séricas de Lp(a) elevadas, tanto en pacientes hipercolesterolémicos como hipertriglicéridémicos.

Palabras clave:

Lipoproteína(a). Hipercolesterolemia. Adultos cubanos.

SERUM CONCENTRATIONS OF LIPOPROTEIN(A) IN CUBAN PATIENTS WITH DYSLIPIDEMIA

Objectives. To determine concentrations of lipoprotein(a) [Lp(a)] in a sample of the adult Cuban population with dyslipidemia.

Method. We studied 170 patients with total cholesterol concentrations of > 6.2 mmol/L and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol of > 3.4 mmol/L and 197 individuals with cholesterol levels of < 5.2 mmol/L and triglyceride levels of < 2.3 mmol/L as a control group.

Concentrations of cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, apolipoprotein B-100 (Apo B-100) and Lp(a) were determined and LDL cholesterol was calculated using Friedewald's formula.

Results. Significant differences ($p < 0.0001$) were obtained for Lp(a) between patients and controls (54.44 ± 36.93 vs 31.08 ± 27.79 mg/dl) and these differences were maintained when each sex was analyzed separately. A strong correlation was found between Lp(a) and LDL cholesterol and Apo B-100 and to a lesser extent with total cholesterol in dyslipidemic patients only. Frequency histogram in patients showed a tendency to deviation toward the right (higher values) while in controls, deviation was toward the left. Finally, a higher mean value of Lp(a) was found in the subgroup of hypertriglyceridemic individuals compared with those with normal triglyceride levels.

Conclusions. The sample of the Cuban population analyzed showed elevated serum concentrations of Lp(a) both in patients with hypercholesterolemia and in those with hypertriglyceridemia.

Key words:

Lipoprotein(a). Hypercholesterolemia. Cuban adults.

Correspondencia: Dr. A. Nasiff-Hadad.
Hospital Hermanos Ameijeiras.
San Lázaro, 701. 10300 Centro Habana. La Habana. Cuba.
Correo electrónico: nasiff@infomed.sld.cu

Tabla 1. Características clinicoepidemiológicas en la muestra de población cubana

	Varones (n = 170)		Mujeres (n = 197)	
	Pacientes (n = 61)	Controles (n = 109)	Pacientes (n = 109)	Controles (n = 88)
Edad (años)	55,00 ± 10,61	58,15 ± 13,6	58,47 ± 9,8	62,46 ± 9,31
IMC (kg/m ²)	25,05 ± 4,04	25,41 ± 2,75	25,88 ± 5,10	25,90 ± 3,53
Tabaquismo (%)	44,6	50,0*	24,3	23,0
Diabetes (%)	10,7	11,5	14,7	15,4
Hipertensión (%)	51,8	57,7*	50,0	61,5*
Colesterol (mmol/l)	6,97 ± 1,66	4,26 ± 0,67**	7,18 ± 2,05	4,09 ± 0,69**
Triglicéridos (mmol/l)	2,49 ± 2,12	1,18 ± 0,68**	2,42 ± 2,43	0,95 ± 0,42**
cHDL (mmol/l)	1,04 ± 0,29	1,10 ± 0,25	1,11 ± 0,33	1,09 ± 0,26
cLDL (mmol/l)	4,95 ± 1,75	2,65 ± 0,68**	5,02 ± 1,55	2,54 ± 0,75**
Apo B-100 (g/dl)	105,32 ± 41,03	81,60 ± 31,14**	98,97 ± 44,98	75,80 ± 28,43**

*p < 0,05; **p < 0,0001.

Introducción

En diversos estudios poblacionales se ha encontrado que la hiperlipoproteinemia(a) es un factor de riesgo independiente para la cardiopatía isquémica^{1,2}. Aunque aún se especula acerca de su papel fisiológico³, la lipoproteína(a) (Lp[a]) interfiere la trombólisis al competir con el plasminógeno en los sitios de unión con la fibrina e inhibe la unión de la fibrina con el activador tisular del plasminógeno, así como la unión del plasminógeno a los monocitos y las células endoteliales^{4,5}.

La Lp(a) tiene control genético y su concentración no está influida por la edad, el sexo ni la dieta, encontrándose grandes diferencias interindividuales pero con relativa estabilidad intraindividual. Los únicos fármacos con efecto reductor de la concentración plasmática de Lp(a) son el ácido nicotínico, la neomicina y los estrógenos. Concentraciones séricas de Lp(a) superiores a 30 mg/dl comportan un mayor riesgo de enfermedad coronaria, principalmente cuando se asocia a elevación del colesterol vehiculado por las lipoproteínas de baja densidad (cLDL)¹. La Lp(a) no sólo ha sido relacionada con la enfermedad coronaria, sino también con otras enfermedades y con otros factores de riesgo. Mientras Ridker et al⁶ y Wityk et al⁷ no hallaron asociación entre la Lp(a) y el riesgo de presentar un infarto cerebral isquémico, Scherle et al⁸ observaron en una serie de pacientes con infarto cerebral concentraciones de Lp(a) más elevadas que el grupo control. Por otra parte, se ha descrito que la Lp(a) es un factor de riesgo independiente para el engrosamiento del complejo íntima-media⁹ y la presencia de placas de ateroma de arterias carótidas en individuos sin enfermedad coronaria¹⁰. Recientemente ha sido descrita esta asociación en población anciana, sólo cuando la Lp(a) contiene

isoformas de apo(a) de tamaño pequeño¹¹. Concentraciones reducidas de Lp(a) se han hallado en individuos con cirrosis hepática, y una cierta tendencia a concentraciones bajas se encuentra en la trombosis venosa profunda, mientras en la hipertensión arterial, en el cáncer de pulmón y en la insuficiencia renal crónica, las concentraciones son significativamente elevadas¹²⁻¹⁴. En los diabéticos tipo 2 no se encuentran diferencias en relación a los controles, y en los fumadores las concentraciones son más bajas que en los no fumadores¹⁵. En individuos con dependencia al alcohol se demostró después de cuatro semanas de abstinencia un incremento de las concentraciones séricas de Lp(a)¹⁶. Los estudios que analizan la Lp(a) en población dislipémica sugieren que ésta se eleva en las hipercolesterolemias¹⁷, sobre todo en presencia de una elevación de las partículas de LDL pequeñas y densas¹⁸, no así en las hipertrigliceridemias, donde se encuentran valores normales o bajos¹⁷. En el presente estudio se describen las concentraciones de Lp(a) en una muestra de población adulta cubana dislipémica.

Pacientes y método

Población y muestra

Se estudió a 170 pacientes de ambos sexos que acudieron de forma consecutiva a la consulta de dislipemia y aterosclerosis del Hospital Hermanos Ameijeiras en el período comprendido entre octubre de 2000 y marzo de 2001, con edades comprendidas entre 16 y 80 años, en los que se demostró concentraciones de colesterol total > 6,2 mmol/l y de cLDL > 3,4 mmol/l. De forma paralela se estudió un grupo de 197 individuos con una colesterolemia < 5,2 mmol/l y trigliceridemia < 2,3 mmol/l, que fue considerado grupo control.

Se excluyó a quienes se encontraban bajo tratamiento hipolipemiante (dietético o farmacológico), embarazadas, pacientes con antecedentes de infarto de miocardio o infarto cerebral de menos de tres meses de evolución y personas tratadas con

Tabla 2. Concentraciones séricas de lipoproteína(a) (mg/dl) en pacientes dislipémicos y controles

Varones (n = 170)		Mujeres (n = 197)		Todos (n = 367)	
Pacientes (n = 61)	Controles (n = 109)	Pacientes (n = 109)	Controles (n = 88)	Pacientes (n = 170)	Controles (n = 197)
51,28 ± 33,15	33,17 ± 28,38	56,20 ± 38,93	28,49 ± 26,97	54,44 ± 36,93	31,08 ± 27,79
p < 0,0001		p < 0,0001		p < 0,0001	

fármacos que contengan esteroides suprarrenales, tiazidas o bloqueadores beta. Se excluyó además a los individuos con triglicéridos séricos superiores a 4,5 mmol/l, y a los que presentaron un episodio febril o infeccioso agudo en los 30 días anteriores a su evaluación en la consulta.

Determinaciones

A los pacientes y controles se les determinó la concentración sérica de colesterol total, triglicéridos, cHDL, apoproteína B-100 y Lp(a) y se calculó el cLDL mediante la fórmula de Friedewald. Las muestras de suero fueron tomadas por punción de una vena periférica sin el uso de torniquetes tras ayuno de 12 h.

Método analítico

Las determinaciones séricas de colesterol y triglicéridos se realizaron mediante métodos enzimáticos automatizados en Hitachi 705, y el cHDL, por precipitación selectiva con ácido fosfotúngstico y cloruro de magnesio según método de Bursstein modificado por López Virella. La Lp(a) y la apo-B fueron determinadas por ELISA (Boehringer Mannheim).

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS con el fin de calcular los valores medio y desviación estándar de las variables lipídicas, entre ellas la Lp(a) en dislipémicos y controles. El test de Spearman se empleó para establecer la correlación entre Lp(a) y algunas variables lipídicas. La significación estadística fue definida para una p < 0,05.

Resultados

En la tabla 1 se detallan las características clínico-epidemiológicas de los sujetos incluidos en el estudio. En cuanto a los factores de riesgo cardiovascular cabe destacar que el porcentaje de fumadores varones fue significativamente mayor en los controles, así como el porcentaje de hipertensos en el grupo control en relación a los pacientes dentro del mismo sexo. El perfil lipídico fue significativamente diferente entre pacientes y controles de cada sexo, excepto para el cHDL.

La tabla 2 muestra las concentraciones de Lp(a) por sexo, observándose una diferencia significativa (p < 0,0001) entre pacientes dislipémicos y controles. La distribución de la frecuencia de pacientes y controles por rangos de valores de Lp(a) muestra una desviación hacia la derecha en los pacientes, a diferencia de lo que ocurre en los controles (fig. 1).

Tabla 3. Análisis de correlación de la lipoproteína(a) con otras variables lipídicas

	Pacientes			Controles		
	n	r	p	n	r	p
Colesterol	178	0,15	0,023	189	0,11	0,070
Triglicéridos	178	0,01	0,446	189	0,09	0,102
cLDL	166	0,24	0,001	189	0,05	0,233
Apo B-100	172	-0,25	0,001	170	0,12	0,059

cLDL: colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad; Apo B-100: apolipoproteína B-100.

El porcentaje de sujetos con Lp(a) ≥ 30 mg/dl fue del 64,12% (109 de 170) en los pacientes y del 42,64% (84 de 197) en los controles. La concentración de Lp(a) en los hipertriglicéridémicos (≥ 2,3 mmol/l) fue de 52,14 mg/dl (n = 66) y en los normotriglicéridémicos (< 2,3 mmol/l) fue de 39,65 mg/dl (n = 301). El análisis de correlación entre las concentraciones de las variables lipídicas con la Lp(a) (tabla 3) mostró significación estadística entre Lp(a) y colesterol total, cLDL y apo B-100 sólo en los pacientes.

Discusión

La cardiopatía isquémica y las enfermedades cerebrovasculares constituyen la primera y tercera causa, respectivamente, de muerte para todas las edades en Cuba¹⁹. Asimismo, se estima que la población cubana tiene una alta prevalencia de dislipemias²⁰. La concentración plasmática de Lp(a) está determinada por varios factores. El primero es la isoforma de la apo(a), siendo el tamaño de la misma inversamente proporcional a la concentración de Lp(a)²¹. Rader et al²² demostraron que las variaciones en las concentraciones de Lp(a) entre individuos con la misma isoforma de apo(a) dependen de la tasa de producción de Lp(a). Se han señalado otras condiciones que pudieran influir en la concentración plasmática de Lp(a), entre las que se encuentra la hipercolesterolemia. La población dislipémica cubana mostró concentraciones séricas de Lp(a) más altas que la

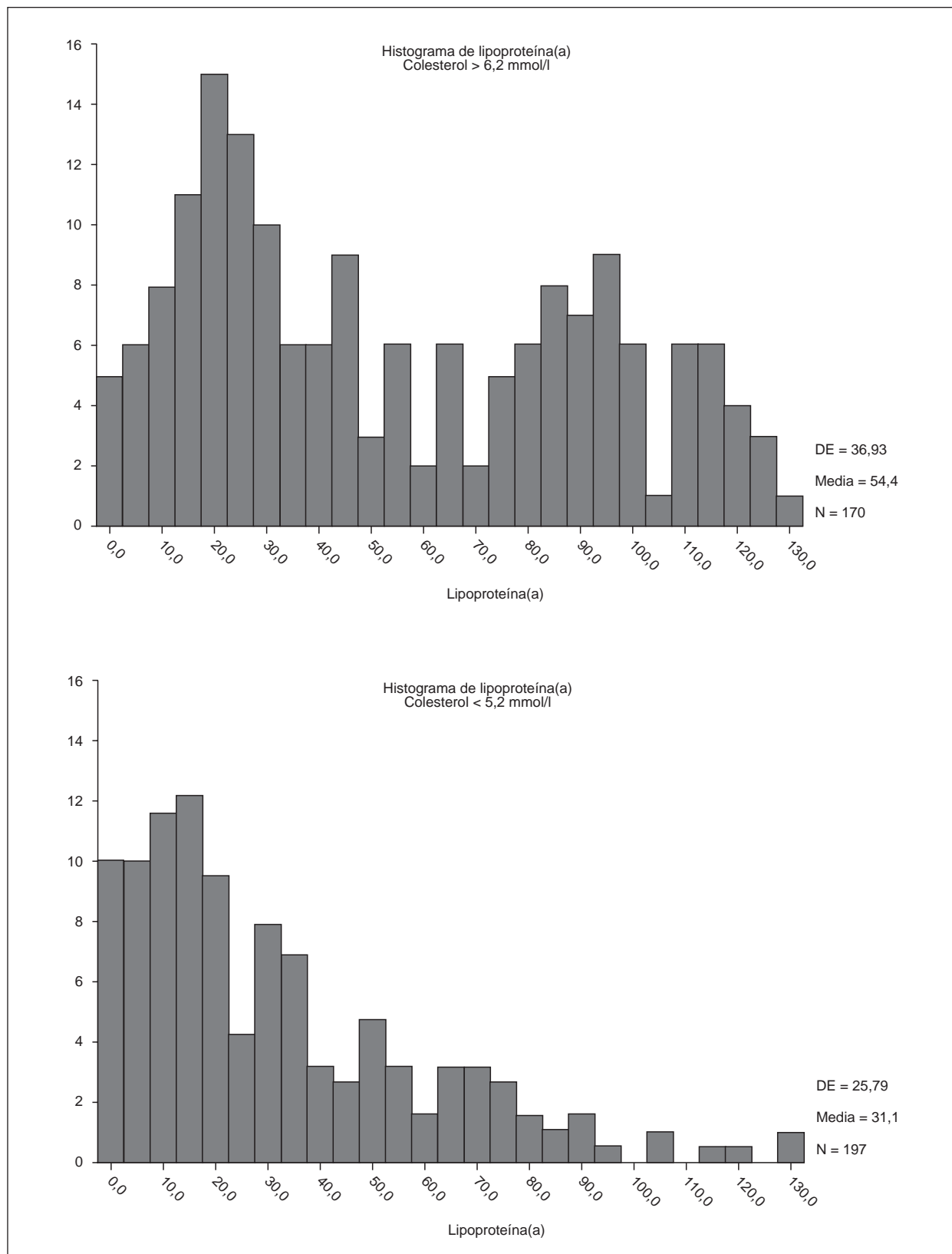


Figura 1. Distribución de la lipoproteína(a).

población control no dislipémica, lo que la sitúa en un nivel de riesgo cardiovascular superior, ya que su efecto aterogénico es mayor cuando a la elevación de la Lp(a) se asocia la elevación del cLDL^{17,23}. Recientemente, Fan et al²⁴ han demostrado en conejos transgénicos que expresan apo(a) humana, que la Lp(a) exacerba el desarrollo de la aterosclerosis en la hipercolesterolemia, posiblemente mediando en la proliferación de las células musculares lisas²⁵. Es de destacar que las concentraciones de Lp(a) y el porcentaje de sujetos con Lp(a) > 30 mg/dl de la población cubana analizada, tanto dislipémica como normolipémica, son mayores que las descritas en poblaciones étnicamente diferentes^{16,26-33}. Si bien Mbewu et al²⁶ sólo encontraron elevación de Lp(a) plasmática en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota, no así en otras formas de hipercolesterolemias primarias, la población dislipémica del presente estudio estaba constituida por hipercolesterolemias poligénicas. En este sentido, en población afroamericana se ha descrito que aquellos con concentraciones elevadas de cLDL presentaron Lp(a) más elevada, independientemente de la presencia o ausencia de cardiopatía isquémica³⁴. En el presente estudio se demostró una fuerte correlación entre Lp(a) y colesterol total, cLDL y apo B-100, tal y como han descrito otros autores³⁵. Además encontramos concentraciones de Lp(a) mayores en el subgrupo de sujetos hipertriglicéridémicos que en el de los normotriglicéridémicos, resultados similares a los referidos en la población sueca y en la de Sri Lanka²⁷. No se conoce la causa por la que en sujetos dislipémicos se detectan concentraciones de Lp(a) más elevadas. Bartens et al¹⁷ señalan como posible explicación que el hígado incrementa la tasa de producción de apo(a) contenida en cLDL en estados de hipercolesterolemia o de apo(a) contenida en lipoproteínas ricas en triglicéridos, en estados de hipertriglicéridemias, o como señalan Friedlander et al³⁶ que el efecto de la hipercolesterolemia familiar sobre la Lp(a) varía en función del tipo de mutación del receptor de las cLDL.

La muestra de población cubana analizada mostró concentraciones séricas de Lp(a) elevadas, tanto en pacientes hipercolesterolémicos como hipertriglicéridémicos. Dado que la mayoría de fármacos hipolipemiantes de que disponemos en la actualidad, y muy especialmente las estatinas, no tienen efecto sobre las concentraciones de Lp(a), es imprescindible alcanzar los objetivos terapéuticos en términos de cLDL recomendados por las guías clínicas al uso.

Bibliografía

- Dahlen GH. Lp(a) lipoprotein in cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 1994;108:111-26.
- Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000;102:1082-5.
- Lippi G, Guidi G. Lipoprotein(a): from ancestral benefit to modern pathogen? *QJM* 2000;93:75-84.
- Hervio L, Durlach V, Girard-Globa A, Angles-Cano E. Multiple binding with identical linkage: a mechanism that explains the effect of lipoprotein(a) on fibrinolysis. *Biochemistry* 1995;34:13353-8.
- Morrisett JD. The role of lipoprotein(a) in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:243-50.
- Ridker PM, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of lipoprotein(a) and the risk of future stroke. *JAMA* 1995;273:1269-73.
- Wityk RJ, Kittner SJ, Jenner JL, Hebel JR, Epstein A, Wozniak MA, et al. Lipoprotein(a) and the risk of ischemic stroke in young women. *Atherosclerosis* 2000;150:389-96.
- Scherle CE, Nasiff-Hadad A, Beguería RA, Pérez-Nellar J, Colina-Rodríguez AJ. Lípidos y lipoproteínas en un grupo de pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica. *Rev Neurol* 1998;27:804-8.
- Schreiner PJ, Morrisett JD, Sharrett AR, Patsch W, Tyroler HA, Wu K, et al. Lipoprotein(a) as a risk factor for preclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1993;13:826-33.
- Cambillau M, Simon A, Amar J, Giral Ph, Atger V, Segond P, et al. Serum Lp(a) as a discriminant marker of early atherosclerotic plaque at three extracoronary sites in hypercholesterolemic men. *Arterioscler Thromb* 1992;12:1346-52.
- Paultre F, Tuck CH, Boden-Albala B, Kargman DE, Todd E, Jones J, et al. Relation of apo(a) size to carotid atherosclerosis in an elderly multiethnic population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:141-6.
- Sechi LA, Zingaro L, De Carli S, Sechi G, Catena C, Falletti E, et al. Increased serum lipoprotein(a) levels in patients with early renal failure. *Ann Intern Med* 1998;129:457-61.
- Bairaktari E, Elisaf M, Tsolas O, Siamopoulos KC. Serum Lp(a) levels in patients with moderate renal failure. *Nephron* 1998;79:367-8.
- Van Wersch JWJ. The behaviour of Lipoprotein(a) in patients with various diseases. *Scand J Clin Lab Invest* 1994;54:559-62.
- Siekmeier R, Marz W, Kronenberger H, Seiffert UB, Groß W. Effects of cigarette smoking on plasma lipids, apolipoproteins, and lipoprotein(a) in healthy subjects. *Clin Chem* 1994;40:1350-1.
- Huang C-M, Elin RJ, Ruddle M, Schmitz J, Linnoila M. The effect of alcohol withdrawal on serum concentrations of Lp(a), apolipoproteins A-1 and B, and lipids. *Alcohol Clin Exp Res* 1992;16:895-8.
- Bartens W, Rader DJ, Talley G, Brewer HB. Lipoprotein(a) in patients with hyperlipidaemia. *Eur J Clin Nutr* 1995;25:647-53.
- Rainwater DL, Ludwig MJ, Haffner SM, VandeBerg JL. Lipid and lipoprotein factors associated with variation in Lp(a) density. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:313-9.
- Anuario Estadístico de Salud (año 2000). Dirección Nacional de Estadísticas, Ministerio de Salud Pública, República de Cuba.
- Nasiff-Hadad A, Klaindorff SB, Jiménez PR, Baldor NF. Prevalencia de hipercolesterolemia en la población adulta del Municipio Habana Vieja. *Rev Cubana Med Gen Integral* 1992;8:293-306.
- Utermann G, Menzel HJ, Kraft HG, Duba HC, Kemmler HG, Seitz C. Lp(a) glycoprotein phenotypes. Inheritance and relation to Lp(a)-lipoprotein concentrations in plasma. *J Clin Invest* 1987;80:458-65.
- Rader DJ, Cain W, Ikewaki K, Talley G, Zech LA, Usher D, et al. The inverse association of plasma lipoprotein(a) concentrations with apolipoprotein(a) isoform size is not due to differences in Lp(a) catabolism but to differences in production rate. *J Clin Invest* 1994;93:2758-63.
- Von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assmann G. Lipoprotein(a) further increases the risk of coronary events in men with high global cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:434-9.
- Fan J, Sun H, Unoki H, Shiomi M, Watanabe T. Enhanced atherosclerosis in Lp(a) WHHL transgenic rabbits. *Ann N Y Acad Sci* 2001;947:362-5.
- Ichikawa T, Unoki H, Sun H, Shimoyamada H, Marcovina S, Shikama H, et al. Lipoprotein(a) promotes smooth muscle cell proliferation and dedifferentiation in atherosclerotic lesions of human apo(a) transgenic rabbits. *Am J Pathol* 2002;160:227-36.

26. Mbewu AD, Ghatnagar D, Durrington PN, Hunt L, Ishola M, Arrol S, et al. Serum lipoprotein(a) in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia, their relatives, and unrelated control populations. *Arterioscler Thromb* 1991;11:940-6.
27. Junger I, Mendis S, Bjellerup P. Lipoprotein(a): levels in a Swedish Population in relation to other lipid parameters and in comparison with a male Sri Lankan population. *Clin Biochem* 1995;28:427-34.
28. Cobbaert C, Kesteloot H. Serum Lipoprotein(a) levels in racially different populations. *Am J Epidemiol* 1992;136:441-9.
29. Elisof M, Bairaktari H, Siamopoulos KC. Lp(a) levels in Greek patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Int J Cardiol* 1996;53:314-6.
30. Iso H, Koike KA, Folsom AR, Shimamoto T, Sato S, Lida M, et al. Lipoprotein(a) and its correlates in Japanese and US population samples. *Ann Epidemiol* 1996;6:324-30.
31. Aydenian H, Fadel MA, Baddoura R. Epidemiological study of hyperlipemia in a Lebanese population. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999; 57:697-703.
32. Hoogeveen RC, Gambhir JK, Gambhir DS, Kimball KT, Ghazzaly K, Gaubatz JW, et al. Evaluation of Lp[a] and other independent risk factors for CHD in Asian Indians and their USA counterparts. *J Lipid Res* 2001;42:631-8.
33. Vrhovski-Hebrang D, Flegar-Mestric Z, Bobetic-Vranic T, Surina B. Lipoprotein(a) concentrations in school children and adolescents in Croatia. *Coll Antropol* 1999;23:79-86.
34. Moliterno DJ, Jokinen EV, Miserez AR, Lange RA, Willard JE, Boerwinkle E, et al. No association between plasma lipoprotein(a) concentrations and the presence or absence of coronary atherosclerosis in African-Americans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:850-5.
35. Cheng SWK, Ting ACW, Wong J. Lipoprotein(a) and its relationship to risk factors and severity of atherosclerotic peripheral vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997;14:17-23.
36. Friedlander Y, Leitersdorf E. Segregation analysis of plasma lipoprotein(a) levels in pedigrees with molecularly defined familial hypercholesterolemia. *Gen Epidemiol* 1995;12:129-43.

Efecto del etofibrato de liberación sostenida en pacientes con concentraciones plasmáticas de lipoproteína(a) > 300 mg/l

A. Nasiff-Hadad^a, P. Ramos-Marín^a, R. Simón-Carballo^b, N. Cordero-Rojas^a, J. Soto^a, E. Meriño-Ibarra^a

^aGrupo de dislipidemias y aterosclerosis. Hospital Hermanos Ameijeiras. La Habana.

^bInstituto Nacional de Angiología y Cirugía Vasculard. La Habana. Cuba.

Objetivos. Evaluar el efecto del etofibrato de liberación sostenida en las concentraciones de lipoproteína(a) [Lp(a)] plasmática en pacientes con concentraciones superiores a 300 mg/l después de 3 meses de dieta tipo etapa I del National Cholesterol Education Program (NCEP).

Método. De un total de 112 pacientes examinados en la consulta externa de dislipidemias del Hospital Hermanos Ameijeiras, La Habana, se seleccionó a 20 pacientes (10 varones y 10 mujeres) que presentaron concentraciones séricas de Lp(a) superiores a 300 mg/l después de 3 meses de dieta hipolipemiente etapa I del NCEP. Se administró a los pacientes seleccionados etofibrato, 500 mg/día, durante 24 semanas. Se determinaron las concentraciones de colesterol y triglicéridos totales, de colesterol asociado a las lipoproteínas de baja (cLDL) y alta (cHDL) densidad y las de Lp(a) antes y a las 4, 12 y 24 semanas del tratamiento.

Resultados. Se observaron reducciones significativas de colesterol, triglicéridos y cLDL y aumentos de cHDL en cada tiempo analizado en relación con el valor basal. Las concentraciones séricas de Lp(a) se redujeron significativamente ($p < 0,01$) con la administración de etofibrato: 856 mg/l en situación basal, 617 mg/dl a la cuarta semana después del tratamiento, 594 mg/l a la 12.^a semana y 604 mg/l a la 24.^a semana. La reducción

ya fue significativa desde la cuarta semana de tratamiento y se mantuvo así hasta la 24.^a semana. En 4 de los 20 pacientes, cuyas concentraciones basales de Lp(a) fueron las más bajas de todo el grupo, se observó un aumento significativo ($p < 0,001$) de la Lp(a) en la semana 24 de tratamiento (desde 559 a 636 mg/l).

Conclusiones. El etofibrato de liberación retardada, a dosis de 500 mg/día, redujo las concentraciones de Lp(a) en más del 30%, en relación a su valor basal, después de 4 semanas de su administración y mantuvo esta tendencia durante las 24 semanas de control en los pacientes con las concentraciones más elevadas; en los pacientes con concentraciones más bajas (aunque superiores a 300 mg/l) se incrementó ligera, pero significativamente la Lp(a). Estos efectos del etofibrato en la concentración de Lp(a) no han sido descritos con anterioridad.

Palabras clave:

Lipoproteína(a). Etofibrato.

EXTENDED-RELEASE ETOFIBRATE:
EFFECT IN PATIENTS WITH PLASMA Lp(a)
CONCENTRATIONS > 300 mg/l

Objectives. To evaluate the effect of a sustained-release form of etofibrate on the lipoprotein(a) [Lp(a)] concentration in patients showing Lp(a) concentrations higher than 300 mg/l after a 3-month period of NCEP National Cholesterol Education Program (NCEP) step-I diet.

Correspondencia: Dr. Alfredo Nasiff-Hadad.
Hospital Hermanos Ameijeiras.
San Lázaro, 701. 10300 La Habana. Cuba.
Correo electrónico: nasiff@infomed.sld.cu

Methods. Among 112-screened patients, 20 (10 female and 10 male) were selected when their Lp(a) concentrations were higher than 300 mg/l after 3-month period on NCEP step type-I diet. All selected patients received etofibrate retard (500 mg/day) during 24 weeks. Total cholesterol and triglycerides and cholesterol associated to low (LDLc) and high density (HDLc) lipoproteins, as well as Lp(a) concentrations were measured before and after 4, 12 and 24 weeks of etofibrate therapy.

Results. Significant decrease respect to pretreatment values was observed for total cholesterol and triglyceride and for low (LDLc) and high (HDLc) cholesterol concentrations after etofibrate therapy. Lp(a) concentrations decreased significantly ($p < 0.01$) from 856 to 617 mg/l (after 4 weeks of etofibrate), 594 (after 12 weeks) and 604 (after 24 weeks). Significant reductions of Lp(a) occurred since week 4 of therapy. Four of the 20 treated patients, showed small, but significant ($p < 0.001$) increases (from 559 to 636 mg/l) of Lp(a) concentrations after etofibrate therapy; Lp(a) concentrations of these patients were the smallest among all the analyzed patients.

Conclusions. Extended-release etofibrate at a dose of 500 mg/day reduced Lp(a) concentrations in a 30% after 4-weeks of therapy; the effect of etofibrate on Lp(a) concentrations extended until the end of therapy (at 24th week of treatment). Etofibrate reduced Lp(a) concentrations in patients showing higher Lp(a) concentrations; however, in patients showing smallest increases of Lp(a) a light, but significant, increase of Lp(a) was observed. These effects of etofibrate on Lp(a) concentrations are described for the first time.

Key words:
Lipoprotein(a). Etofibrate.

Introducción

La lipoproteína(a) [Lp(a)], aislada por Berg en 1963¹, es una macromolécula formada por una lipoproteína de baja densidad (LDL) unida por puentes disulfuro a la apoproteína(a) [apo(a)], proteína sintetizada por el hígado y con similitud estructural al plasminógeno, con la que compite por sus sitios de unión con la fibrina, las células endoteliales y los macrófagos, y reduce su actividad fibrinolítica². Recientemente se ha demostrado, en

conejos transgénicos, que la Lp(a) favorece el desarrollo de la placa de ateroma posiblemente mediante la diferenciación y proliferación de las células musculares lisas^{3,4}.

Se ha demostrado que la Lp(a) es un factor de riesgo de cardiopatía isquémica independiente de otros constituyentes lipídicos y de otros factores de riesgo cardiovascular clásicos⁵⁻¹³. Asimismo se ha demostrado que las concentraciones plasmáticas de Lp(a) en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico¹⁴⁻¹⁸ y en pacientes con claudicación intermitente¹⁹⁻²¹ son mayores que en los sujetos no afectados por estas enfermedades.

Esta relación entre concentración plasmática de Lp(a) y un mayor riesgo de sufrir un evento agudo aterotrombótico²² explica el interés de hallar mecanismos capaces de reducir el aumento de las concentraciones plasmáticas. Las concentraciones plasmáticas de Lp(a) están determinadas genéticamente²³, hecho que podría justificar el escaso éxito alcanzado con los tratamientos dietéticos o farmacológicos para reducirlas. Diferentes tipos de dieta (baja en grasa, hipocalórica, vegetariana, con modificación de la composición de ácidos grasos) no han mostrado resultados satisfactorios en la disminución de las concentraciones plasmáticas de Lp(a)^{24,25}. Entre los tratamientos para reducir los valores de lípidos y lipoproteínas, sólo el ácido nicotínico y la neomicina⁶, los estrógenos²⁶⁻²⁸ y la LDL-aféresis fueron capaces de disminuir las concentraciones plasmáticas de Lp(a)²⁴.

El etofibrato es un diéster del ácido clofíbrico y del ácido nicotínico cuyos componentes se liberan inmediatamente después de la absorción digestiva y poseen probada acción hipocolesterolemia y hipotrigliceridemia. El etofibrato actúa disminuyendo la síntesis hepática de colesterol y triglicéridos y aumentando la degradación de las lipoproteínas. Este fármaco fue ensayado por Klor et al²⁹ en 10 pacientes hipercolesterolémicos con Lp(a) superior a 200 mg/l, y se observó una reducción sólo en aquellos con concentraciones superiores a 500 mg/l. Este estudio inicial no permitió establecer conclusiones definitivas por el escaso número de sujetos analizados y por la exclusión de algunos de los pacientes. Hasta la fecha no se han producido más descripciones del efecto de este fármaco sobre las concentraciones de la Lp(a).

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto del tratamiento con etofibrato, durante 6 meses, en las concentraciones plasmáticas de Lp(a) en pacientes hipercolesterolémicos sometidos a dieta hipocolesterolemia y que presentaran concentraciones de la lipoproteína superiores a 300 mg/l.

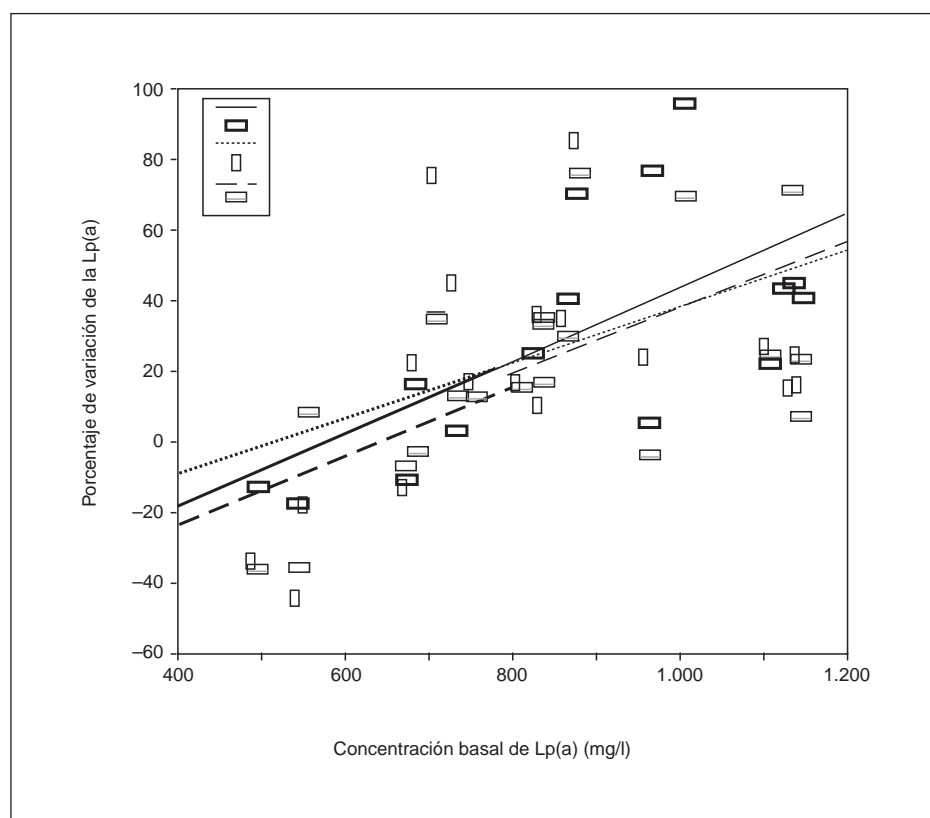


Figura 1. Regresión lineal entre el porcentaje de variación de la Lp(a) respecto al valor basal de la Lp(a) para cada etapa del tratamiento con etofibrato de acción lenta (500 mg/día).

Material y métodos

Población y muestra analizada

Durante el período comprendido entre junio y septiembre de 2001 se analizó consecutivamente a 112 pacientes visitados en la consulta externa de dislipemias y aterosclerosis del Hospital Hermanos Ameijeiras de la Habana, Cuba. Entre ellos se seleccionó sólo a 20 pacientes (10 mujeres y 10 varones), con edad media de 61 años (29-78 años), en quienes se observaron concentraciones plasmáticas de colesterol iguales o superiores a 6,2 mmol/l (240 mg/dl) y de Lp(a) a 300 mg/l, después de haber sido sometidos durante tres meses a la etapa I de la dieta hipolipemiante del NCEP³⁰.

Se excluyó del estudio a los pacientes que presentaron infarto cardíaco en los 3 meses anteriores a la visita, así como a los portadores de angina inestable, diabetes mellitus tipo 1, hipercolesterolemias secundarias a hipotiroidismo y nefropatías, a los que presentaban aumento de la actividad catalítica de las enzimas hepáticas, a las mujeres gestantes y lactantes, a los pacientes con índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m², así como a los pacientes tratados con hipolipemiantes, prednisona y análogos esteroides, anticonceptivos orales y esteroides anabolizantes.

Diseño del estudio

En todos los pacientes seleccionados se siguieron los siguientes pasos:

1. Determinación inicial en suero de Lp(a), colesterol total y asociado a las lipoproteínas de alta (cHDL) y baja (cLDL) densidad y triglicéridos.

2. Tratamiento con dieta hipolipemiante durante 12 semanas de acuerdo a las recomendaciones para la etapa I de la dieta del NCEP y la AHA³⁰, con la orientación y supervisión de un dietista. El cumplimiento de la dieta se valoró mediante encuesta dietética en visitas del paciente a la consulta cada 3 semanas.

3. Se repitieron las determinaciones analíticas ya referidas. Se incluyó en el estudio a los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión para el colesterol y la Lp(a) y estos valores se tomaron como las cifras basales de las variables lipídicas analizadas.

4. Se inició la administración del etofibrato de liberación lenta³¹ a razón de una tableta de 500 mg en dosis única después de la comida.

5. Se repitieron las determinaciones analíticas a las 4, 12 y 24 semanas del inicio del tratamiento farmacológico.

Se retiró del estudio a 2 pacientes que presentaron manifestaciones gastrointestinales, siendo sustituidos por otros 2 que cumplieron los criterios de inclusión.

El protocolo de este ensayo fue revisado y aprobado por la comisión ética del hospital. A los pacientes se les explicó el propósito, naturaleza y riesgos del estudio antes de obtener el consentimiento firmado. El medicamento fue entregado gratuitamente.

Métodos analíticos

El colesterol y los triglicéridos totales se determinaron por métodos enzimáticos estandarizados adaptados a un autoanalyzer Hitachi 717 (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza); el cHDL, mediante precipitación selectiva con ácido fosfotúngstico y cloruro de magnesio. La concentración de cLDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald. La concentración de

Tabla 1. Variables lipídicas antes y durante cada etapa del tratamiento con etofibrato de absorción lenta (500 mg/día)

	Basal	Semanas de tratamiento		
		4	12	24
Colesterol total	7,14 (1,00)	5,99 (0,95) ^b	5,73 (1,02) ^b	5,55 (0,80) ^b
Triglicéridos	1,74 (0,84)	1,30 (0,43) ^a	1,07 (0,42) ^b	1,07 (0,43) ^b
cHDL	1,12 (0,39)	1,38 (0,51) ^a	1,43 (0,36) ^a	1,49 (0,44) ^b
cLDL	5,66 (1,01)	4,37 (1,05) ^b	4,10 (0,96) ^b	4,00 (0,93) ^b
Lp(a)	836 (227)	617 (235) ^a	594 (241) ^a	604 (254) ^a

Los valores están expresados en medias (desviación estándar) y todas las concentraciones en mmol/l, excepto Lp(a) en mg/l.

^ap < 0,01, ^bp < 0,001 respecto a las concentraciones basales.

Lp(a) se determinó mediante un método inmunoturbidimétrico (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza).

Métodos estadísticos

Se calculó la media y la desviación estándar de las magnitudes analizadas en cada etapa del tratamiento, y el porcentaje de variación en cada etapa en relación con el valor basal. La significación de las diferencias se analizó mediante la prueba de la t de Student para muestras pareadas y, cuando fue necesario, para muestras independientes; se consideró significativa una p < 0,05. Se analizó la asociación entre el porcentaje de reducción de Lp(a) logrado en cada etapa y su concentración basal; se ajustó la ecuación de regresión por el método de los mínimos cuadrados.

Resultados

En la tabla 1, se resumen las medias y desviaciones estándar observadas para las variables lipídicas antes del inicio y en cada etapa del tratamiento con etofibrato de liberación lenta. Se observaron reducciones significativas, respecto al valor basal, de las concentraciones de colesterol, triglicéridos totales, cLDL y Lp(a) e incremento de las de cHDL, en cada una de las semanas analizadas. Los valores basales de la Lp(a) oscilaron entre 486 y 1.140 mg/l.

Tabla 2. Concentraciones basales y tras tratamiento con etofibrato de absorción lenta (500 mg/día)

Semana de tratamiento	Todos (n = 20)	Grupo A (n = 16)	Grupo B (n = 4)
Basal	836	905	559 ^d
4	617 (-21%) ^c	609 (-31%) ^b	650 (17%)
12	594 (-25%) ^c	568 (-38%) ^c	700 (26%) ^a
24	604 (-23%) ^c	596 (-32%) ^b	636 (14%) ^b

Los datos se expresan como media y porcentajes de variación respecto a la concentración inicial durante cada etapa del tratamiento, y las concentraciones de Lp(a) en mg/l. Grupo A: pacientes en los que disminuyó significativamente la Lp(a). Grupo B: pacientes en los que no disminuyó significativamente la Lp(a).

^dp < 0,05 respecto al grupo A. ^ap < 0,05. ^bp < 0,01. ^cp < 0,001 para cada semana respecto a la concentración basal.

En 16 pacientes la Lp(a) sérica disminuyó desde la cuarta semana hasta el final del tratamiento. Sin embargo en los otros 4 (2 varones y 2 mujeres), con edades entre 43 y 78 años, las concentraciones de Lp(a) aumentaron ligeramente; en 3 de ellos en las semanas 4, 12 y 24 y en uno en las semanas 12 y 24 de tratamiento. En estos pacientes, las concentraciones basales de Lp(a) fueron las más bajas de la serie analizada (entre 486 y 666 mg/l); la concentración basal más baja observada en el grupo A, en el que disminuyó la Lp(a), fue 725 mg/l.

Se dividió a los pacientes en dos grupos (tabla 2): los 16 en quienes la Lp(a) disminuyó (grupo A) y los 4 en quienes aumentó (grupo B). Los del grupo A mostraron una reducción estable de la concentración de Lp(a) respecto al valor basal, con similares porcentajes de reducción en cada una de las etapas (p < 0,01 para la 4.^a y 24.^a semanas y p < 0,001 para la 12.^a semana). Los 4 pacientes del grupo B tuvieron un valor basal promedio significativamente menor que el valor basal promedio del grupo A (p < 0,05).

La figura 1 muestra el diagrama de dispersión y las rectas de regresión del porcentaje de reducción de la Lp(a) con respecto a la concentración inicial en las semanas 4, 12 y 24 de tratamiento. Las rectas de regresión muestran pendientes positivas y de magnitud similar, lo que indica, por un lado, que una vez lograda la reducción a la 4.^a semana ésta tiende a mantenerse y, por otro, que a mayor concentración basal de Lp(a), mayor porcentaje de variación.

Discusión

El etofibrato es un agente hipolipemiante conocido por sus efectos sobre los lípidos y lipoproteínas del suero al reducir las concentraciones totales de colesterol y triglicéridos, así como las de cLDL, e incrementar las de cHDL; estos efectos se han corroborado en este estudio utilizando una dosis de 500

mg/día de una forma de liberación retardada. En el estudio se evidenció que el etofibrato también disminuía las concentraciones séricas de Lp(a) en 16 pacientes cuyos valores basales eran superiores a 725 mg/l, mientras que no las disminuyó en 4 pacientes con concentraciones entre 486 y 666 mg/l.

En la literatura se ha descrito la utilización de múltiples fármacos hipolipemiantes para reducir la concentración de Lp(a) sérica. En 23 trabajos que han ensayado inhibidores de la HMG-CoA reductasa³²⁻⁶³, en los que se utilizó lovastatina³²⁻⁴², lovastatina combinada con colestipol⁴³, pravastatina^{32,41,44-49}, lovastatina combinada con colestiramina⁴⁹, pravastatina combinada con colestiramina o colestipol⁵⁰, simvastatina^{34,37,49,51-61}, fluvastatina⁶² y atorvastatina⁶³, sólo se obtuvo reducción significativa de la Lp(a) en dos de ellos, en los que se utilizó la lovastatina^{39,40}; en el resto, la reducción no fue estadísticamente significativa o incluso se observó que la concentración de Lp(a) aumentó con el tratamiento. Los ensayos con derivados del ácido fibríco se han realizado con varios medicamentos: con gemfibrozil los resultados son contradictorios, ya que se ha descrito ausencia de modificación con dosis entre 1.200 mg y 2.400 mg/día⁶⁴⁻⁶⁶ o disminución significativa de la concentración con dosis de 1.200 mg/día^{35,67}. En dos ensayos con bezafibrato disminuyó la concentración de Lp(a)^{68,69}, mientras en otros cuatro no se redujo significativamente^{49,70,71} o aumentó⁷². Se ha descrito que el fenofibrato (a dosis de 200 mg/día) reducía moderadamente la concentración de Lp(a)^{61,73}. Los agentes secuestradores de ácidos biliares tampoco han mostrado efectos beneficiosos cuando se han administrado aisladamente^{41,44,49,74} o se han combinado con inhibidores de la HMG-CoA reductasa^{39,41,49,50}. El único medicamento con acción hipolipemiente que ha mostrado efecto reductor de la Lp(a) sérica es el ácido nicotínico, ya sea utilizado aisladamente^{42,75-77} o en combinación con otros fármacos^{43,78}, y fármacos similares como el niceritrol⁷⁹⁻⁸¹ y el acipimox^{59,77}. Las dosis de ácido nicotínico utilizadas en los diferentes trabajos oscilaron entre 1,5 y 6 g. La principal limitación del ácido nicotínico es la alta frecuencia con la que produce efectos colaterales y, por tanto, su baja tolerabilidad en la práctica clínica⁸².

De acuerdo a lo anterior, en la selección de un fármaco hipolipemiente se debería considerar la concentración de Lp(a) del paciente, y escoger los que disminuyan las concentraciones si éstas se hallan elevadas. Éste es el caso del etofibrato. El etofibrato es metabolizado en parte como hidroxietiléster de ácido clofibrínico-2 y ácido nicotínico y, en parte, como hidroxietiléster de ácido nicotínico-2 y

ácido clofibrínico y sus conjugados. Los dos hidroxietilésteres medios, tanto el del ácido clofibrínico como el del ácido nicotínico, son activos farmacodinámicamente. Por otra parte, se ha descrito que los fármacos hipolipemiantes que disminuyen la síntesis de cLDL son más activos en la reducción de la Lp(a) sérica³⁷. Este hecho justificaría la coincidencia de respuestas favorables observadas con la administración del ácido nicotínico y del etofibrato.

Si se comparan las reducciones de la concentración sérica de Lp(a) descritas para el ácido nicotínico^{42,75-77} y las obtenidas con el etofibrato en el presente trabajo se observan porcentajes similares de reducción. Lepré et al⁷⁶ describieron una reducción del 24% de la concentración al utilizar 500 mg/día de ácido nicotínico y del 67% con la dosis de 2.000 mg/día durante tres semanas; dosis de 4.000 mg/día produjeron disminuciones del 38% a las 6 semanas de tratamiento⁷⁵. En el presente trabajo la reducción alcanzada a las 24 semanas de tratamiento con la forma de liberación retardada del etofibrato, en el subgrupo de 16 pacientes en los que disminuyó la Lp(a), fue del 32%.

En nuestro estudio se observó que 4 pacientes no disminuían su concentración de Lp(a) con el tratamiento con etofibrato. Esta tendencia a modificaciones opuestas entre individuos tratados con el mismo fármaco ha sido descrita por otros autores^{32,37,38,48,54,65,69}. Se ha sugerido que esta divergencia en la respuesta de la Lp(a) al tratamiento hipolipemiente se debe a su heterogeneidad genética^{30,83,84}. A diferencia de lo observado en el presente estudio con etofibrato, en que no se redujo la concentración de Lp(a) en los sujetos con menores concentraciones basales, Kostner et al³⁷ y Slunga et al⁵⁴ con simvastatina y Jacob et al³² con lovastatina y pravastatina han descrito elevaciones de Lp(a) en los pacientes con concentraciones basales más elevadas. Klausen describió que los pacientes que más elevaron la Lp(a) durante el tratamiento con pravastatina fueron aquellos con las isoformas de apo(a) pequeñas (S1-S2), cuyas concentraciones basales fueron más elevadas, y que se observaron incrementos inferiores de Lp(a) en pacientes con las isoformas S3 y S4; no se observaron cambios en el fenotipo de Lp(a) de los pacientes durante el tratamiento, lo que indicaba que el aumento de concentración no fue debido a cambios estructurales (p. ej. proteólisis) inducidos por la droga. Los 4 pacientes del presente estudio en quienes no se modificó la concentración de Lp(a) durante el tratamiento tuvieron concentraciones basales escasamente elevadas (entre 487 y 666 mg/l) comparadas con las del resto de los pacientes analizados. Klor et al²⁹ describieron que en 10 pacientes

con Lp(a) sérica elevada se observaba una reducción significativa del 16,6% después de 4 semanas de tratamiento con 1 g/día de etofibrato en dos tomas; sin embargo, a las 12 y 16 semanas de tratamiento se observó un ligero incremento de la concentración de Lp(a), aunque el efecto total no fue significativo. En contraste, estos mismos autores describieron reducciones individuales de entre el 3,4 y el 33,7% en 5 de los 10 pacientes analizados que presentaron concentraciones basales más elevadas (> 500 mg/l). Este comportamiento de la Lp(a), distinto del descrito con el tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa, ha sido descrito para el bezafibrato de liberación sostenida⁶⁸ y el ácido nicotínico^{75,78}. Aunque la concentración de Lp(a) está determinada genéticamente por la isoforma de apo(a)⁸⁵, existen factores ambientales⁸⁶, como los cambios estacionales⁵⁰, la concentración de estrógenos circulantes⁸⁷, la administración de aspirina⁵⁵, las concentraciones circulantes de lipoproteínas ricas en triglicéridos^{75,88-90} y el aumento concomitante de la concentración de proteína C reactiva⁴⁸, que también pueden influir en esta concentración. Por otra parte, se ha descrito que individuos con la misma isoforma de apo(a) presentan concentraciones significativamente distintas de Lp(a)^{91,92}, circunstancia que ha sido atribuida a la tasa de síntesis de la lipoproteína⁹².

Los ensayos clínicos en los que se ha medido el efecto de fármacos hipolipemiantes sobre la concentración de Lp(a) difieren en las dosis del medicamento utilizado, el tiempo en que se ha evaluado el efecto, el número de pacientes evaluados y la concentración basal de Lp(a) que presentaban y los métodos bioquímicos empleados para determinar la Lp(a)⁹³⁻⁹⁵. En el futuro serán necesarios nuevos ensayos con etofibrato para determinar el efecto sobre la Lp(a) sérica, en los que se contemplen todos los factores de confusión mencionados, para poder concluir con certeza el efecto beneficioso del fármaco sobre la concentración de esta lipoproteína aterogénica.

Bibliografía

- Berg KA. A new serum type system in man. The Lp System. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963;59:369-82.
- Nasiff-Hadad A, Anglés-Cano E. Lipoproteína(a): trombogénesis y aterogénesis. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13:6-18.
- Fan J, Sun H, Unoki H, Shiomi M, Watanabe T. Enhanced atherosclerosis in Lp(a) WHHL transgenic rabbits. *Ann N Y Acad Sci* 2001;947:362-5.
- Ichikawa T, Unoki H, Sun H, Shimoyamada H, Marcovina S, Shikama H, et al. Lipoprotein(a) promotes smooth muscle cell proliferation and dedifferentiation in atherosclerotic lesions of human apo(a) transgenic rabbits. *Am J Pathol* 2002;160:227-36.
- Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, et al. Relation of serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) phenotype to coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990;322:1494-9.
- Genest J, Jenner JL, McNamara JR, Ordovas JM, Silberman SR, Wilson PWF, et al. Prevalence of lipoprotein (a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1039-45.
- Bostom AG, Gagnon DR, Cupples A, Wilson PWF, Jenner JL, Ordovas JM, et al. A prospective investigation of elevated lipoprotein(a) detected by electrophoresis and cardiovascular disease in women. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994;90:1688-95.
- Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Jenner JL, McNamara JR, Ordovas JM, Davis CE, et al. Lipoprotein(a) levels and risk of coronary heart disease in men. The Lipid Research Clinics coronary primary prevention trial. *JAMA* 1994;271:999-1003.
- Dahlén GH, Stenlund H. Lp(a) lipoprotein is a major risk factor for cardiovascular disease: pathogenic mechanisms and clinical significance. *Clin Genet* 1997;52:272-80.
- Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998;82:57U-66.
- Batalla A, Reguero JR, Iglesias Cubero G. Plasma lipoprotein(a) and severity of angiographic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:590-1.
- Fujino A, Watanabe T, Kunii H, Yamaguchi N, Yoshinari K, Watanabe Y, et al. Lipoprotein(a) is a potential coronary risk factor. *Jpn Circ J* 2000;64:51-6.
- Uusimaa P, Kervinen K, Kesaniemi A, Peukurinen K. Serum lipoprotein(a) level in relation to severity of coronary artery disease and coronary artery patency in acute myocardial infarction. *Heart Vessels* 2002;16:37-41.
- Scherle CE, Nasiff-Hadad A, Begeruía RA, Pérez-Nellar J, Colina-Rodríguez AJ. Lípidos y lipoproteínas en un grupo de pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica. *Rev Neurol* 1998;27:804-8.
- Nagayama M, Shinohara Y, Nagayama T. Lipoprotein(a) and ischemic cerebrovascular disease in young adults. *Stroke* 1994;25:74-8.
- Jurgens G, Taddei-Peters WC, Koltringer P, Petek W, Chen Q, Greilberger J, et al. Lipoprotein(a) serum concentration and apolipoprotein(a) phenotype correlate with severity and presence of ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1995;26:1841-8.
- Sentí M, Pedro-Botet J, Rubiés-Prat J, Nogués X, Auguet T, Roquer J, et al. Influence of apolipoprotein(a) genetic polymorphism on serum lipoprotein(a) concentration in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Cerebrovasc Dis* 1994;4:298-303.
- Shintani S, Kikuchi S, Hamaguchi H, Shiigai T. High serum lipoprotein(a) levels are an independent risk factor for cerebral infarction. *Stroke* 1993;24:965-9.
- Molgaard J, Klausen IC, Lassvik C, Faergeman O, Gerdes LU, Olsson AG. Significant association between low-molecular-weight apolipoprotein(a) isoforms and intermittent claudication. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1992;12:895-901.
- Kiortsis DN, Turpin G. Action athérogène de la lipoprotéine(a) sur les artères périphériques de sujets hypercholestérolémiques des deux sexes. *Sem Hôp Paris* 1999;75:1213-8.
- Dionysiou-Asteriou A, Papastamatiou M, Vatalas I, Bastounis E. Serum Lp(a) lipoprotein levels in patients with atherosclerotic occlusive disease of the lower extremities. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000;20:57-60.
- Morrisett JD. The role of Lipoprotein[a] in atherosclerosis. *Curr Ather Rep* 2000;2:243-50.
- Dieplinger H, Kronenberg F. Genetics and metabolism of lipoprotein(a) and their clinical implications (Part 1). *Wien Klin Wochenschr* 1999;111:5-20.
- Berglund L. Diet and drug therapy for lipoprotein(a). *Current Opinion Lipidol* 1995;6:48-56.
- Vessby BOH. Diet and lipoprotein(a). *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1996;6:239-44.
- Mijatovic V, van der Moeren MJ, Kenemans P, de Valk-de Roo GW, Netelenbos C. Raloxifene lowers serum lipoprotein(a) in healthy postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled comparison with conjugated equine estrogens. *Menopause* 1999;6:34-7.
- Estelles A, Cano A, Falcó C, España F, Gilabert J, Grancha S, et al. Lipoprotein(a) levels and isoforms and fibrinolytic activity in postmenopause –influence of hormone replacement therapy. *Thromb Haemost* 1999;81:104-10.

28. Serin IS, Aygen EM, Basbug M, Saraymen R, Narin F, Tayyar M. Continuous versus cyclical transdermal oestrogen replacement therapy in postmenopausal women: effects on lipoprotein(a) and nitric oxide levels. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001;41:447-9.
29. Klor E, Loy S, Huth K. Effects of etofibrate therapy on high lipoprotein(a) levels in patients with hypercholesterolemia. *Curr Ther Res* 1994;55:988-96.
30. Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *JAMA* 1993;269:3015-23.
31. Departamento de investigación clínica de Merz+Co. Lipo-Merz Retard. MERZ Pharma.
32. Jacob BG, Richter WO, Schwandt P. Lovastatin, pravastatin and serum lipoprotein(a). *Ann Intern Med* 1990;112:713-4.
33. Li PK, Mak TW, Chiu K, Mak GYK, Leung CB, Lui SF, et al. Effect of lovastatin on serum lipid profile in the treatment of dyslipoproteinaemia in uraemic patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Aust N Z J Med* 1993;23:252-7.
34. Farmer JA, Washington LC, Jones PH, Shapiro DR, Gotto AM Jr, Mantell G. Comparative effects of simvastatin and lovastatin in patients with hypercholesterolemia. *Clin Ther* 1992;14:708-17.
35. Ramirez JAF, Mansur AP, Solimene MC, Maranhao R, Chamone D, da Luz P, et al. Effect of gemfibrozil versus lovastatin on increased serum lipoprotein(a) levels of patients with hypercholesterolemia. *International J Cardiol* 1995;48:115-20.
36. Chacón P, López D, Lima J, Fernández-Cortijo J, Pascual C, Vilar-dell M. Ausencia de cambios en la concentración de lipoproteína(a) después del tratamiento con lovastatina durante 3 años en pacientes con hipercolesterolemia primaria. *Clin Invest Arterioscler* 1995;7:26-32.
37. Kostner GM, Gavish D, Leopold B, Bolzano K, Weintraub MS, Breslow JL. HMG CoA reductase inhibitors lower LDL cholesterol without reducing Lp(a) levels. *Circulation* 1989;80:1313-9.
38. Jurgens G, Ashy A, Zenker G. Raised serum lipoprotein during treatment with lovastatin. *Lancet* 1989;1:911-2.
39. Leren TP, Hjerermann I, Foss OP, Leren P, Berg K. Long-term effect of lovastatin alone and in combination with cholestyramine on lipoprotein(a) level in familial hypercholesterolemic subjects. *Clin Investig* 1992;70:711-8.
40. Traindl O, Reading S, Franz M, Watschinger B, Klausner R, Pidlich H, et al. Treatment of hyperlipidemic kidney graft recipients with lovastatin: effect on LDL-cholesterol and lipoprotein(a). *Nephron* 1992;62:394-8.
41. Dobs AS, Prasad M, Goldberg A, Guccione M, Hoover DR. Changes in serum lipoprotein(a) in hyperlipidemic subjects undergoing long-term treatment with lipid-lowering drugs. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:677-84.
42. Illingworth DR, Stein EA, Mitchel YB, Dujovne CA, Frost PH, Knopp RH, et al. Comparative effects of lovastatin and niacin in primary hypercholesterolemia. A prospective trial. *Arch Intern Med* 1994;154:1586-95.
43. Brown G, Albers JJ, Fisher SM, Schaefer SM, Lin JT, Kaplan C, et al. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med* 1990;323:1289-98.
44. Wiklund O, Angelin B, Olofsson S-E, Eriksson M, Gager G, Berglund L, et al. Apolipoprotein(a) and ischaemic heart disease in familial hypercholesterolemia. *Lancet* 1990;335:1360-3.
45. Cobbaert C, Sergeant P, Meyens B, Szecsi J, Kesteloot H. Time course of serum Lp(a) in men after coronary artery bypass grafting. *Acta Cardiologica* 1992;47:529-42.
46. Umeda F, Watanabe J, Inoue K, Hisatomi A, Mimura K, Yamachi T, et al. Effect of pravastatin on serum lipids, apolipoproteins and lipoprotein(a) in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Endocrinol Jpn* 1992;39:45-50.
47. Fieseler HG, Armstrong VW, Wieland E, Thiery J, Schultz E, Walli AK, et al. Serum Lp(a) concentrations are unaffected by treatment with HMG-CoA reductase inhibitor pravastatin: results of a 2 years investigation. *Clin Chim Acta* 1991;204:291-300.
48. Barbi G, Corder CN, Koren E, McConathy W, Ye SQ, Wilson P. Effect of pravastatin and cholestyramine on triglyceride-rich lipoprotein particles and Lp(a) in patients with type II hypercholesterolemia. *Drug Develop Res* 1992;27:297-306.
49. Branchi A, Rovellini A, Fiorenza AM, Sommariva D. Effects of bezafibrate and of 2 HMG-CoA reductase inhibitors on lipoprotein(a) level in hypercholesterolemic patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1995;33:345-50.
50. Klausen IC, Gerdes LU, Meinertz H, Hansen FA, Faergeman O. Apolipoprotein(a) polymorphism predicts the increase of Lp(a) by pravastatin in patients with familial hypercholesterolaemia treated with bile acid sequestration. *Eur J Clin Investig* 1993;23:240-5.
51. Wanner C, Lubrich-Birkner, Summ O, Weiland H, Schollmeyer P. Effect of simvastatin on qualitative and quantitative changes of protein metabolism in CAPD patients. *Nephron* 1992;62:40-6.
52. Thiery J, Armstrong VW, Schlee J, Creutzfeldt C, Creutzfeldt W, Seidel D. Serum lipoprotein Lp(a) concentrations are not influenced by an HMG CoA reductase inhibitor. *Klin Wochenschr* 1988;66:462-3.
53. McDowell IFW, Smye M, Trinick T, Shortt JA, Archibald MP, Trimble ER, et al. Simvastatin in severe hypercholesterolaemia: a placebo controlled trial. *Br J Clin Pharmacol* 1991;31:340-3.
54. Slunga L, Johnson O, Dahlen GH. Changes in Lp(a) lipoprotein levels during treatment of hypercholesterolaemia with simvastatin. *Eur J Clin Pharmacol* 1992;43:369-73.
55. Sampietro T, Galetta F, Bionda A. Behavior of Lp(a) and apoproteins (A1, B, C2, C3, E) during and after therapy with simvastatin. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:785-9.
56. Galetta F, Sampietro T, Basta G, Giannasi G, Bionda A. Effects of simvastatin on blood levels of lipoprotein. *Minerva Med* 1995;86:299-303.
57. Haffner S, Orchard T, Stein E, Schmidt D, LaBelle P. Effect of simvastatin on Lp(a) concentrations. *Clin Cardiol* 1995;18:261-7.
58. Adamska-Dyniewska H, Chojnowska-Jezierska J. Effect of one-year treatment with low simvastatin doses on lipids and Lp(a) in patients with significant hypercholesterolemia. *Pol Arch Med Wewn* 1998;99:366-72.
59. Hoogerbrugge N, Jansen H, De Heide L, Zillikens MC, Deckers JW, Birkenhager JC. The additional effects of acipimox to simvastatin in the treatment of combined hyperlipidaemia. *J Intern Med* 1998;243:151-6.
60. Bredie SJ, Westerveld HT, Knipscheer HC, de Bruin TW, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effects of gemfibrozil or simvastatin on apolipoprotein-B-containing lipoproteins, apolipoprotein-CIII and lipoprotein(a) in familial combined hyperlipidaemia. *Neth J Med* 1996;49:59-67.
61. Farnier M, Bonnefous F, Debbas N, Irvine A. Comparative efficacy and safety of micronized fenofibrate and simvastatin in patients with primary type IIa or IIb hyperlipidemia. *Arch Intern Med* 1994;154:441-9.
62. Leitersdorf E, Eisenberg S, Eliav O, Friedlander V, Berkman N, Dann EJ, et al. Genetic determinants of responsiveness to the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin in patients with molecularly defined hypercholesterolemia. *Circulation* 1993;87(Suppl III):35-44.
63. Goudevenos JA, Bairaktari ET, Chatzidimou KG, Milionis HJ, Mikhailidis DP, Elisaf MS. The effect of atorvastatin on serum lipids, lipoprotein(a) and plasma fibrinogen levels in primary dyslipidaemia —A pilot study involving serial sampling. *Curr Med Res and Opin* 2001;16:269-75.
64. Fereshetian AG, Davidson M, Haber H, Black DM. Gemfibrozil treatment in patients with elevated lipoprotein(a). A pilot study. *Clin Drug Invest* 1998;16:1-7.
65. Jones PH, Pownall HJ, Patsch W, Herd JA, Farmer JA, Payton-Ross C, et al. Effect of gemfibrozil on levels of lipoprotein[a] in type II hyperlipoproteinemic subjects. *J Lipid Res* 1996;37:1298-308.
66. Jauhainen M, Koskinen P, Ehnholm C, Frick MH, Manttari M, Manninen V, et al. Lipoprotein(a) and coronary heart disease risk: a nested case-control study of the Helsinki Heart Study participants. *Atherosclerosis* 1991;89:59-67.
67. Simoni G, Gianotti A, Ardia A, Balardi A, Civalleri D. Gemfibrozil and mediterranean diet for patients with high plasma levels of lipoprotein [Lp(a)] and cholesterol-pilot study. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995;9:347-50.
68. Bimmermann A, Boerschmann C, Schwartzkopff W, Von Baeyer H, Schleicher J. Effective therapeutic measures for reducing lipoprotein(a) in patients with dyslipidemia. Lipoprotein(a) reduction with sustained-release bezafibrate. *Curr Therap Res* 1991;49:635-43.

69. Maggi FM, Piglionica MR, De Michele L, Baroni S, Biasi GM, Capapano AL. Bezafibrate lowers elevated plasma levels of fibrinogen and lipoprotein(a) in patients with type IIa and b dyslipoproteinemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1994;4:215-20.
70. Pelegrí A, Romero R, Sentí M, Nogués X, Pedro-Botet J, Rubies-Prat J. Effect of bezafibrate on lipoprotein(a) and triglyceride-rich lipoproteins, including intermediate-density lipoproteins, in patients with chronic renal failure receiving haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7:623-6.
71. Kostner G, Klein G, Krempler F. Can serum Lp(a) concentrations be lowered by drugs and/or diet? In: Carlson LA, Olsson G, editors. Treatment of hyperlipoproteinemia. New York: Raven, 1984; p. 151-6.
72. Barbir M, Hunt B, Kushwaha S, Kehely A, Prescott R, Thompson GR, et al. Maxepa versus bezafibrate in hyperlipidemic cardiac transplant recipients. *Am J Cardiol* 1992;70:1596-601.
73. Communications au 7.o Congrès de l'EAS. Lipoprotéine Lp(a), athérosclérose et fénofibrate. *JAMA* 1992;(Suppl a l'édition française):2-4.
74. Vessby B, Kostner G, Lithell H, Thomis J. Diverging effects of cholestyramine on apolipoprotein B and lipoprotein Lp(a). A dose-response study of the effects of cholestyramine in hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1982;44:61-71.
75. Carlson LA, Hamsten A, Asplund A. Pronounced lowering of serum levels of lipoprotein Lp(a) in hyperlipidaemic subjects treated with nicotinic acid. *J Int Med* 1989;26:271-6.
76. Lepre F, Campbell B, Crane S, Hickmn P. Low-dose sustained release nicotinic acid (Tri-B3) and lipoprotein(a) [Letter]. *Am J Cardiol* 1992;70:133.
77. Seed M, O'Connor B, Perombelon N, O'Donnell M, Reaveley D, Knight BL. The effect of nicotinic acid and acipimox on lipoprotein(a) concentration and turnover. *Atherosclerosis* 1993;101:61-8.
78. Gurakar A, Hoeg JM, Kostner G, Papadopoulos NM, Brewer HB Jr. Levels of lipoprotein Lp(a) decline with neomycin and niacin treatment. *Atherosclerosis* 1985;57:293-301.
79. Matsunaga A, Handa K, Mori T, Moriyama K, Hidaka K, Yuki N, et al. Effects of niceritrol on levels of serum lipids, lipoprotein(a), and fibrinogen in patients with primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1992;94:241-8.
80. Nakahama H, Nakanishi T, Uyama O, Sugita M, Miyazaki M, Yokokawa TE, et al. Niceritrol reduces plasma lipoprotein(a) levels in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Ren Fail* 1993;5:189-93.
81. Teramoto T, Yamada N, Shimano H, Oka Y, Itakura H, Saito Y, et al. Dose-dependent effect of niceritrol on plasma Lipoprotein-a. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;56:359-65.
82. Angelin B. Therapy for lowering lipoprotein(a) levels. *Current Opin Lipidol* 1997;8:337-41.
83. Kronenberg F, Kronenberg MF, Kiechl S, Trenkwalder E, Santer P, Oberhollenzer F, et al. Role of lipoprotein(a) phenotype in atherogenesis. Prospective results from the Bruneck Study. *Circulation* 1999;100:1154-60.
84. Lippi G, Guidi G. Lipoprotein(a) from ancestral benefit to modern pathogen? *Q J Med* 2000;93:75-84.
85. Alsaied M, Al-Essa M, Alsaied K, Sharma PN. Lipoprotein (a) profiles in Arab newborns. *Pediatr Intern* 1999;41:65-9.
86. Bremner WF, Sothorn RB, Kanabrocki EL, Ryan M, McCormick JB, Dawson S, et al. Relation between circadian patterns in levels of circulating lipoprotein(a), fibrinogen, platelets, and related lipid variables in men. *Am Heart J* 2000;139:164-73.
87. Su W, Campos H, Judge H, Walsh BW, Sacks FM. Metabolism of apo(a) and apo B100 of lipoprotein(a) in women: effect of postmenopausal estrogen replacement. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3267-76.
88. Sentí M, Pedro-Botet J, Rubies-Prat J, Marrugat J. Interrelationship of triglyceride-rich lipoproteins, serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) size. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;56:311-8.
89. Wlek T, Von Eckardstein A, Schulte H, Assmann G. Effect of hypertriglyceridaemia on lipoprotein(a) serum concentrations. *Eur J Clin Invest* 1995;25:311-6.
90. Bartens W, Rader DJ, Talley G, Brewer HB. Decreased plasma levels of lipoprotein(a) in patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 1994;108:149-57.
91. Parlavecchia M, Pancaldi A, Taramelli R, Valsania P, Galli L, Pozza G, et al. Evidence that apolipoprotein(a) phenotype is a risk factor for coronary artery disease in men < 55 years of age. *Am J Cardiol* 1994;74:346-51.
92. Rader DJ, Cain W, Zech LA, Usher D, Brewer B Jr. Variation in lipoprotein(a) concentrations among individuals with the same apolipoprotein(a) isoform is determined by the rate of lipoprotein(a) production. *J Clin Invest* 1993;91:443-7.
93. Kostner GM, Steinmetz A. Standardization of Lp(a) measurements. *Clin Genet* 1997;52:393-7.
94. Anglés-Cano E, Loyau S, Cardoso-Saldaña G, Couderc R, Gillery P. A novel kringle-4 number-based recombinant apo[a] standard for human apo[a] phenotyping. *J Lip Res* 2000;40:1-6.
95. Hernández C, Chacón P, García-Pascual L, Rosselló J, Simó R. Lipoproteína(a) y estimación del colesterol LDL mediante la fórmula de Friedewald: un nuevo problema para una vieja ecuación. *Med Clin (Barc)* 1999;113:290-1.



Varón de 49 años remitido para estudio de hiperlipidemia mixta y elevación de transaminasas

F. Civeria Murillo y E. Meriño-Ibarra

Unidad de Lípidos. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Exposición clínica inicial

Se trata de un varón de 49 años remitido por su médico de Atención Primaria por tener concentraciones elevadas de colesterol desde hace 3 años con escasa respuesta al tratamiento con estatinas.

Su padre de 75 años estaba sano, con cifras normales de colesterol y triglicéridos (TG). La madre de 69 años padecía diabetes mellitus (DM) tipo 2 desde hace 20 años y estaba en tratamiento con hipolipemiantes por presentar cifras de colesterol y TG elevados. Por su parte, una hermana y una hija estaban sanas.

El paciente no ha sido fumador, bebe unos 10 gramos de alcohol al día en forma de vino en la comida del mediodía. Trabaja en una fábrica en una cadena de montaje, con una actividad laboral sedentaria, camina una hora al día y algo más durante el fin de semana. Lleva dieta pobre en grasa animal y colesterol desde hace 3 años. No ha habido cambios en el peso en los últimos años.

Actualmente está asintomático y en tratamiento con 40 mg de lovastatina al día. La exploración refleja los siguientes datos: peso 72 kg; talla 1,59 m; índice de masa corporal 28,5 kg/m²; no se aprecia arco corneal, ni xantelasmas; los pulsos están presentes y simétricos en extremidades; no presenta xantomas tendinosos. La auscultación cardíaca es normal y la tensión arterial de 122/72 mmHg. El perímetro de cintura era de 98 cms.

El paciente aporta la siguiente analítica solicitada hace 15 días por su médico de Atención Primaria. La analítica de sangre se hizo después de 10 horas de ayunas y bajo tratamiento con lovastatina 40 mg/día: colesterol total 298 mg/dl, triglicéridos 384 mg/dl, colesterol HDL: 38 mg/dl; colesterol LDL (calculado): 183 mg/dl; glucosa 142 mg/dl; ácido úrico: 8,1 mg/dl; GOT/AST: 112 UI/l; GPT/ALT: 156 UI/l; bilirrubina, proteínas totales, fosfatasa alcalina, GGT, urea y creatinina dentro de la normalidad.

A partir de la exposición clínica, ¿cuál sería el diagnóstico sindrómico inicial?

¿Qué pruebas complementarias estarían indicadas?

¿Cuál sería la sospecha diagnóstica actual y el diagnóstico diferencial?

¿Cuál fue el procedimiento diagnóstico de certeza?

¿Cuál sería el planteamiento terapéutico?

¿Cuál sería el diagnóstico de presunción inicial?

A la luz de los resultados de la primera visita y la exploración analítica que aporta el enfermo es diagnosticado de: 1. Hiperlipidemia mixta IIb, posiblemente secundaria a un síndrome metabólico y una hiperlipidemia familiar combinada.

2. Diabetes mellitus tipo 2. 3. Sobrepeso. 4. Hepatitis secundaria a fármacos y/o esteatohepatitis.

El paciente tiene una hiperlipidemia mixta, ya que presenta concentraciones elevadas de colesterol y triglicéridos. Este patrón es frecuente y suele ser debido a una elevación simultánea de partículas VLDL (ricas en triglicéridos) y LDL (ricas en colesterol); por ese motivo se le diagnostica de una hiperlipoproteinemia tipo IIb. El diagnóstico diferencial

desde el punto de vista lipoproteico se plantea con la hiperlipoproteinemia tipo III, también llamada disbetalipoproteinemia, en la que la hiperlipidemia mixta es secundaria a una elevación de partículas remanentes, especialmente de IDL con cifras de LDL normales.

La hiperlipoproteinemia tipo III es una dislipidemia poco frecuente que se presenta como una hiperlipidemia mixta grave, habitualmente con cifras superiores a 350-400 mg/dl, tanto de colesterol total como de triglicéridos, secundaria a un defecto genético en el gen de apo E. Habitualmente los sujetos son homocigotos para el alelo E2 del gen de apo E. Los heterocigotos no presentan alteraciones lipídicas, por lo que la hiperlipoproteinemia tipo III es una enfermedad autosómica recesiva. Su diagnóstico requiere la demostración de aumento de IDL en sangre, técnica difícil y costosa, ya que precisa una ultracentrifugación, o bien la determinación del genotipo de apo E. Hoy día, en presencia de una hiperlipoproteinemia mixta grave y genotipo apo E2/2, se acepta el diagnóstico de hiperlipoproteinemia tipo III.

El paciente presenta un síndrome metabólico (SM) de acuerdo con los criterios del ATP. Los triglicéridos son superiores a 150 mg/dl, colesterol HDL es menor de 40 mg/dl y la glucemia es mayor de 110 mg/dl. Con estos tres criterios se puede hacer el diagnóstico clínico de SM, lo que le confiere al paciente un riesgo cardiovascular alto, además de indicarnos que muy probablemente existe una resistencia periférica a la acción de la insulina, consecuencia del aumento de grasa abdominal.

Analizando la historia familiar del paciente nos encontramos que la madre presenta una hiperlipidemia mixta y una DM, es decir, nos encontramos con una transmisión autosómica dominante de la dislipidemia en esta familia. La hiperlipidemia familiar combinada es una enfermedad genética compleja con interacción de factores genéticos y ambientales. Se caracteriza por hiperlipidemia de transmisión autosómica dominante, con fenotipos lipoproteicos variables, pero con predominio del IIb, es decir, la hiperlipidemia mixta, y coexiste en muchas ocasiones con el SM. La posibilidad de ampliar el estudio lipídico a otros miembros de la unidad familiar podría confirmar el diagnóstico.

El diagnóstico de diabetes mellitus (DM) tipo 2 quedaría pendiente de una segunda determinación analítica para su confirmación. Según los criterios de la ADA, la glucemia mayor de 126 mg/dl en ayunas en al menos dos ocasiones confirma el diagnóstico de DM. Sospechamos una DM tipo 2 dada la edad, las características clínicas del enfermo y la presencia de una resistencia periférica a la insulina asociada a su SM. El diagnóstico de una diabetes tiene importantes implicaciones pronósticas y terapéuticas. Según el ATP III, la diabetes es un equivalente de riesgo cardiovascular semejante a la cardiopatía isquémica sintomática, ya que el riesgo cardiovascular de los sujetos con diabetes es semejante al de los sujetos que han sufrido un evento coronario sin diabetes. Por este motivo, si se confirma el diagnóstico, el objetivo terapéutico en este enfermo, con respecto a la concentración de colesterol LDL, será situarla por debajo de 100 mg/dl o, en el caso del colesterol no HDL, por debajo de 130 mg/dl.

El índice de masa corporal (IMC) se encuentra entre 25-29,9 kg/m², y por tanto el paciente tiene sobrepeso. Este ex-

ceso de peso y su acumulación abdominal han contribuido en gran medida al desarrollo de la resistencia periférica a la insulina, el SM y la diabetes que presenta este enfermo. Será imprescindible que el paciente disminuya la ingesta calórica y aumente el ejercicio físico para conseguir una reducción de peso hasta valores normales. Éste es el objetivo fundamental del tratamiento en este momento y que el enfermo debe conocer y aceptar.

En cuanto a la sospecha de hepatitis posiblemente secundaria a fármacos (estatinas) y/o a esteatohepatitis, aproximadamente un 0,2-2% (dependiendo de las dosis fundamentalmente), de los pacientes presentan una elevación de las transaminasas con cualquier estatina. Suele elevarse más la GPT/ALT, tiende a aparecer en los primeros meses de tratamiento y desaparece rápidamente, en unas pocas semanas, tras la supresión del fármaco. Cuando las elevaciones superan tres veces el valor superior de la normalidad, se recomienda la suspensión de la estatina, que puede reinstaurarse, habitualmente con dosis más bajas de las empleadas anteriormente o con una estatina diferente, una vez normalizadas las cifras de transaminasas. La esteatosis hepática es otro hallazgo frecuente que acompaña al sobrepeso, a la hiperlipidemia mixta y al SM. De hecho, muchos autores la consideran una manifestación clínica más del SM. El tratamiento de elección de la esteatohepatitis también es la reducción de peso.

¿Cuál sería la actitud terapéutica inicial?

Al enfermo se le recomienda dejar la medicación actual con estatinas e intensificar la reducción de grasas saturadas e hidratos de carbono simples en su dieta y el ejercicio físico. Se le instruye en la necesidad de perder peso hasta los 62 kg (IMC 25 kg/m²) a lo largo de 6-12 meses. De acuerdo a su consumo calórico, se le prescribe una dieta de 1.800 calorías (balance negativo diario de 400 calorías), debiendo caminar 2 horas al día.

¿Qué tipo de exploraciones complementarias estarían indicadas?

Con el objetivo de confirmar los diagnósticos de presunción y comprobar la evolución se le solicita nueva analítica de sangre para dentro de 6 semanas que incluya: glucosa, Hb A1c, colesterol, triglicéridos, colesterol HDL, apo B, colesterol LDL, TSH, fosfatasa alcalina, GOT/AST, GPT/ALT, serología de hepatitis B y C; análisis de orina: para la detección de microalbuminuria; genotipo de apo E y ecografía abdominal y carotídea.

El enfermo es revisado en consulta nuevamente. Ha llevado bien la dieta y ha aumentado su actividad física. Ha perdido 2 kg de peso, su peso actual es de 70 kg, IMC 27,7 kg/m², tensión arterial 126/76 mmHg.

Analítica de sangre: glucosa 133 mg/dl, HbA1c 6,2%, colesterol 279 mg/dl, triglicéridos 333 mg/dl, colesterol

HDL 36 mg/dl, colesterol LDL 176 mg/dl, colesterol no HDL 243 mg/dl, apo B 168 mg/dl; GOT/AST: 89 UI/l; GPT/ALT: 112 UI/l; bilirrubina, proteínas totales, fosfatasa alcalina, gamma-GT, urea y creatinina TSH dentro de la normalidad. La serología a los virus de la hepatitis B y C fueron negativas. Genotipo de apo E: E3/3 y microalbuminuria negativa. La ecografía abdominal presentó alteración difusa de la ecogenicidad hepática compatible con esteatosis; anómala distribución de la grasa abdominal con aumento preferente de grasa preperitoneal (fig. 1). La ecografía carotídea estaba sin placas, con grosor de íntima-media normal (fig. 2).

¿Según los resultados aportados se mantendrían los diagnósticos de sospecha iniciales?

Esta segunda analítica confirma la hiperlipidemia IIB, el SM, la DM tipo 2, el sobrepeso y la esteatohepatitis como causa de la elevación de enzimas hepáticas. La elevación de apo B por encima de lo esperado nos indica un aumento del número total de partículas conteniendo apo B y la probable presencia de LDL pequeñas y densas características del SM. Se descarta hiperlipoproteinemia tipo III por el genotipo de apo E, así como la afectación renal por la ausencia de microalbuminuria. La TSH, fosfatasa alcalina, gammaGT, y creatinina normales, junto a la ausencia de proteinuria descartan las principales causas de hiperlipidemia mixta secundarias.

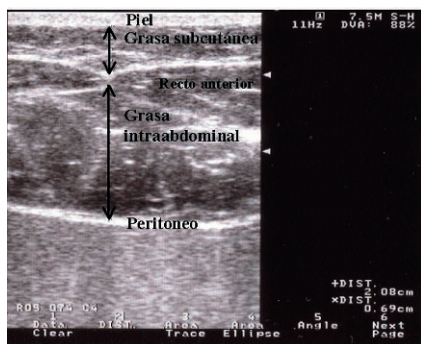


Fig. 1. Ecografía superficial de la pared abdominal donde se aprecia una acumulación de grasa preferentemente intraabdominal sobre la grasa subcutánea.

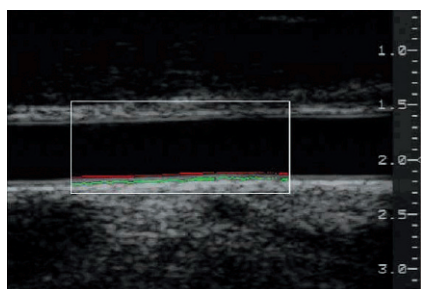


Fig. 2. Ecografía carotídea donde se aprecia un grosor de íntima-media (línea roja)-media (línea verde) dentro de la normalidad.

En este punto ¿qué medidas terapéuticas estarían indicadas?

Llegados a este punto y en vista de las concentraciones lipídicas actuales es poco probable que, con la dieta únicamente, este paciente consiga objetivos lipídicos a corto plazo, por lo que se plantea el inicio de fármacos hipolipemiantes. En presencia de TG por encima de 300 mg/dl, las resinas y las estatinas no son los fármacos de elección, al menos en monoterapia. Los fibratos y la niacina son buenos fármacos para el tratamiento de la hipertrigliceridemia, que además consiguen ascensos en la concentración de colesterol HDL y descensos moderados en la concentración de colesterol LDL. Será imprescindible continuar con la dieta y el ejercicio para la reducción de peso. Para el tratamiento de la resistencia periférica a la insulina asociada a su DM tipo 2 las tiazolidindionas o la metformina en presencia de obesidad son los fármacos de elección. Además, las tiazolidindionas parecen mejorar la esteatohepatitis asociada al SM.

Evolución clínica-analítica

El paciente inició tratamiento con fenofibrato 160 mg/día y pioglitazona 15 mg/día. Se le insistió en mantener la dieta y el ejercicio, y se le programó revisión analítica en 12 semanas. Tras este período el paciente había perdido 1,5 kg de peso (peso actual 68,5 kg, IMC 27 kg/m²) y sus resultados analíticos eran los siguientes: glucosa 118 mg/dl; HbA1c 5,5%; colesterol 210 mg/dl; triglicéridos 152 mg/dl; colesterol HDL 51 mg/dl; colesterol LDL 129 mg/dl; apo B 102 mg/dl GOT/AST: 39 UI/l; GPT/ALT: 52 UI/l.

La evolución y respuesta al tratamiento confirman los diagnósticos iniciales y la necesidad de mantener el tratamiento actual. La cifra de colesterol LDL no ha alcanzado el objetivo de < 100 mg/dl, pero se sitúa por debajo de < 130 mg/dl, por lo que la decisión de asociar una estatina en dosis bajas al tratamiento se retrasó hasta futuras revisiones.

Bibliografía recomendada

- Importante
- Muy importante

- ✓ Metaanálisis
- ✓ Ensayo clínico controlado
- ✓ Epidemiología

Cottrell DA, Marshall BJ, Falko JM. Therapeutic approaches to dyslipidemia in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Curr Opin Cardiol* 2003;18:301-8.

- Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004; 109: 433-8.
- Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-421.



Síndrome metabólico

F. Civeira Murillo^a, E. Meriño-Ibarra^a,
J. Mozota Duarte^b y J.A. Pinilla López-Oliva^b

Servicio de Medicina Interna. Laboratorio de Investigación Molecular.
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

^bUnidad de HTA y Riesgo vascular.
Servicio de Medicina Interna.
Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Concepto

Está bien establecido que determinados factores de riesgo cardiovascular, muy especialmente obesidad, hiperlipidemia, diabetes mellitus (DM) tipo 2 e hipertensión arterial (HTA), tienden a presentarse agrupados en muchos pacientes, y que la incidencia de enfermedad cardiovascular es especialmente prevalente entre este grupo de la población. Reaven, en 1988, introdujo en la literatura médica el término “síndrome X” como un síndrome de resistencia periférica a la insulina inducido por la obesidad y que el hiperinsulinismo asociado a esta condición explicaba la asociación de factores descrita anteriormente¹. Sin embargo, otros nombres como “el cuarteto mortal” (*deadly quarter*), “síndrome plurimetabólico”, “síndrome de resistencia periférica a la insulina” o “síndrome dismetabólico”² se han usado de forma indistinta para describir esta asociación. Recientemente el informe III del Panel de Tratamiento de Adultos (ATP III), del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de los EE.UU. (NCEP) hace especial hincapié en la importancia de este síndrome clínico como factor de riesgo múltiple para la enfermedad cardiovascular, establece nuevos criterios diagnósticos y adopta la denominación de síndrome metabólico (SM)³. Esta denominación es la más ampliamente aceptada en la literatura médica actual.

El SM es, por tanto, un grupo de factores de riesgo cardiovascular que tienden a presentarse de forma conjunta, que presentan una base etiopatogénica común y que está íntimamente relacionada con la obesidad, muy especialmente con el cúmulo de grasa a nivel abdominal. La importancia del SM radica en su elevada y creciente prevalencia en los países occidentales; y que confiere a los pacientes que lo presentan un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y de desarrollo posterior de DM.

PUNTOS CLAVE

Concepto. El síndrome metabólico (SM) es una entidad que agrupa diferentes factores de riesgo vascular, que tienden a presentarse de forma conjunta, con una base etiopatogénica común que está íntimamente relacionada con el cúmulo de grasa abdominal.

Etiopatogenia. El SM es muy frecuente; aproximadamente una cuarta parte de la población adulta de los países occidentales lo padece. Esta entidad confiere un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y de desarrollo posterior de diabetes mellitus tipo 2. La acumulación de grasa abdominal es la principal responsable de la resistencia insulínica, dislipidemia, hipertensión arterial y demás componentes del SM.

Diagnóstico. Los criterios diagnósticos del SM propuestos por el ATP III, que incluyen aumento del perímetro de la cintura, hipertrigliceridemia, colesterol HDL bajo, hipertensión arterial y glucemia elevada en ayunas, son los más utilizados en la actualidad.

Tratamiento. La pérdida de peso y el ejercicio físico regular son el tratamiento de elección del SM. Debido al elevado riesgo cardiovascular que conlleva dicho síndrome es frecuente la necesidad de utilizar fármacos para el control de los factores de riesgo.

Epidemiología

Debido a que los criterios diagnósticos del SM han variado en los últimos años, y que diferentes investigadores han venido utilizando definiciones del SM diversas, la prevalencia que se ha comunicado es algo diferente entre estudios y poblaciones. En la tercera encuesta de nutrición y salud de los EE.UU. (NHANES III) que se ha publicado recientemente, la prevalencia del SM, según los criterios diagnósticos propuestos por el ATP III, entre adultos mayores de 20 años fue del 24%, pero con un incremento progresivo con la edad. En los mayores de 50 años era superior al 30%, y por encima de los 60 años la prevalencia se situaba por encima del 40% de la población. Esta prevalencia era mayor todavía entre los hispanos y, sin embargo, algo inferior entre los americanos de raza negra⁴. En Europa la prevalencia del SM es de 23% para los varones y de 12% para las mujeres, de acuerdo con

los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁵. Cuando en el mencionado estudio NHANES III se comparan ambas definiciones, el resultado ajustado por edad fue del 23,9% usando los criterios del ATP III y del 25,1% usando la definición de la OMS, con una concordancia superior al 80% entre ambas definiciones⁴.

En España los resultados son muy semejantes a los publicados en otras poblaciones occidentales. Álvarez León et al han encontrado una prevalencia del 24,4% del SM entre un grupo de 578 sujetos del estudio ENCA de la Comunidad de Canarias⁶. La prevalencia del SM ha sido algo superior entre las mujeres españolas que entre las mujeres blancas de procedencia europea del estudio San Antonio en un estudio reciente, si se comparan las características clínicas de nuestra población con las del citado estudio estadounidense⁷.

La frecuencia del SM es muy variable de acuerdo con el estado de tolerancia a la glucosa de la población. Como puede verse en la figura 1 tomada del estudio NHANES III, el SM se presenta en el 25,8% de los sujetos con normoglicemia, en el 33,1% de los sujetos con glucemia basal normal, pero glucemia alterada después de una sobrecarga oral de glucosa, y asciende hasta el 71,3% y 86% entre los sujetos con glucosa alterada en ayunas o DM, respectivamente⁴.

Podemos concluir que en los países occidentales de nuestro entorno, incluido el nuestro, con independencia de la definición empleada, aproximadamente una cuarta parte de la población adulta padece el SM, que la prevalencia aumenta con la edad, es más frecuente en varones y entre los sujetos con trastornos del metabolismo hidrocarbonado, y que la prevalencia del SM en España entre las mujeres es incluso superior a la de otras poblaciones.

Síndrome metabólico y riesgo cardiovascular

Un estudio prospectivo en Finlandia involucró a 1.209 varones entre 42 y 60 años libres de enfermedad cardiovascular,

cáncer o DM; fueron seguidos durante 11 años y se estudió la mortalidad coronaria, cardiovascular y total en dependencia de la presencia o no del SM al inicio del seguimiento. Los sujetos con SM tuvieron aproximadamente 4 veces más mortalidad coronaria, 2,5 veces más mortalidad cardiovascular, y 2 veces más mortalidad total que los sujetos sin SM al inicio, a pesar de ajustar por edad, consumo de tabaco, concentración de colesterol en lipoproteínas de baja densidad (colesterol LDL) e historia familiar de enfermedad coronaria⁸. Por tanto, el SM, aun en ausencia de DM, es evidente que incrementa el riesgo cardiovascular y la mortalidad en los sujetos que lo padecen.

En la figura 2 puede verse la prevalencia ajustada por edad de enfermedad coronaria en dependencia de la presencia de SM y/o DM. En mayores de 50 años del estudio NHANES III, la prevalencia fue más alta entre los sujetos con DM y SM simultáneamente (19,2%), seguida por los sujetos con SM pero sin DM (13,9%), que fue muy superior a la prevalencia observada entre los diabéticos sin SM (7,5%) o la población sin DM ni SM (8,7%). Este estudio confirma que el SM supone un riesgo importante de enfermedad cardiovascular en ausencia de DM, y que la combinación de ambas supone un riesgo adicional. Sin embargo, los sujetos con DM pero sin SM no fue significativamente diferente a la encontrada en la población general⁴.

En el estudio Framingham el SM por sí solo predijo aproximadamente el 25% de los eventos cardiovasculares. En ausencia de otros factores de riesgo cardiovascular, el riesgo de enfermedad coronaria se situó entre el 10%-20% a los 10 años para los varones y fue inferior al 10% en mujeres⁹. Sin embargo, el diagnóstico de SM no supuso una ventaja adicional en la predicción coronaria cuando se comparó con los factores de riesgo más clásicos. Por este motivo el ATP III no incluyó al SM en la fórmula para el cálculo del riesgo cardiovascular³. Ello quiere decir que, en ausencia de DM, la introducción de la obesidad, concentración de triglicéridos y de glucosa en el cálculo del riesgo cardiovascular tiene poco valor en el estudio Framingham. La determina-

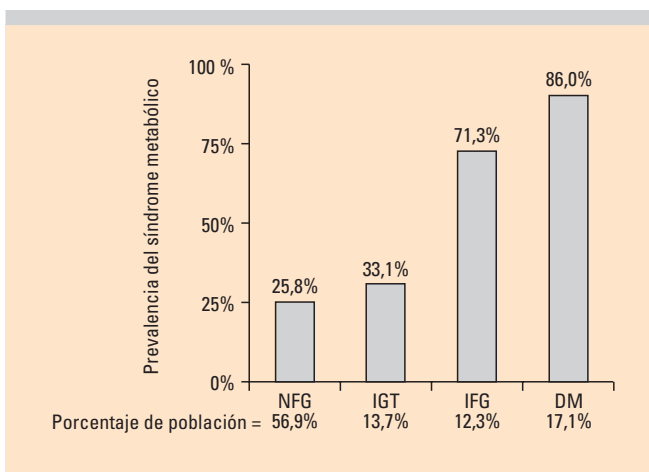


Fig. 1. Prevalencia del síndrome metabólico ajustado por edad y tolerancia a glucosa en mayores de 50 años. Tomada de Alexander CM, et al⁴. NFG: glucemia basal normal; IGT: tolerancia anormal a la glucosa; IFG: glucemia alterada en ayunas; DM: diabetes mellitus.

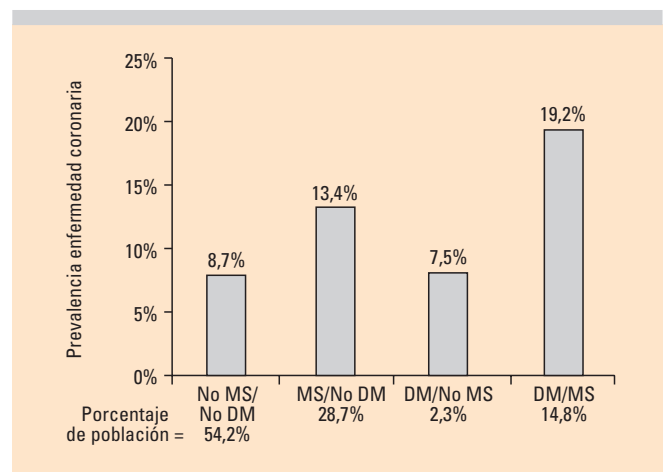


Fig. 2. Prevalencia ajustada por edad de enfermedad coronaria en mayores de 50 años. Tomada de Alexander CM, et al⁴. CHD: enfermedad coronaria; MS: síndrome metabólico; DM: diabetes mellitus. Modificada de Reilly MP, Rader DJ¹⁴.

ción de proteína C reactiva (PCR) posiblemente mejore el poder predictivo cardiovascular del SM, pero hacen falta más estudios para poder confirmar su utilidad¹⁰.

Síndrome metabólico y diabetes mellitus

El SM es un riesgo muy importante para el desarrollo de DM. En el estudio Framingham aproximadamente el 50% de los casos de DM aparecieron entre los sujetos con SM al inicio del seguimiento. En torno al 85% de los pacientes con DM presentan simultáneamente un SM. De los diferentes componentes del SM la resistencia periférica a la insulina es el factor más asociado con el desarrollo posterior de DM en un estudio prospectivo en indios Pima seguidos por un periodo de 4 años. Por este motivo el SM definido por los criterios de la OMS, que requieren la demostración de resistencia periférica a la insulina fue mejor predictor que el SM definido según el ATP III. La obesidad troncular y las concentraciones de lípidos también fueron factores de riesgo independientes para el desarrollo de DM; sin embargo, la tensión arterial no se relacionó con el riesgo de DM. Además, el riesgo de DM en los sujetos con el SM parece independiente de la historia familiar de diabetes, lo que sugiere que los factores ambientales asociados al SM también son los responsables a largo plazo del desarrollo de DM¹¹.

Componentes del síndrome metabólico

El informe del ATP III identifica 6 componentes del síndrome metabólico³ (tabla 1):

Obesidad abdominal

El aumento del tejido adiposo en el organismo como consecuencia de dietas ricas en calorías y del bajo consumo energético, asociado al sedentarismo creciente de los países occidentales es un elemento fundamental y prácticamente constante que a su vez tiene un papel patogénico de primer orden. Cualquier aumento del depósito de grasa se asocia con mayor riesgo de SM, pero la obesidad abdominal o de distribución androide, y muy especialmente el cúmulo del tejido adiposo visceral abdominal es el mejor relacionado con el SM¹². El procedimiento ideal para la medición de este tipo de grasa es la tomografía computarizada o la resonancia magnética, pero son procedimientos que por su coste, tiempo,

riesgo potencial y disponibilidad sólo se aplican en el contexto de la investigación¹². En la práctica clínica el índice de masa corporal (IMC), el perímetro abdominal y el cociente cintura/cadera son los parámetros mejor establecidos y relacionados con el SM. El ATP III recomienda únicamente la medición de la cintura abdominal como la forma sencilla y mejor

correlacionada con la adiposidad asociada al SM³. La esteatosis hepática como expresión del cúmulo adiposo visceral abdominal también puede utilizarse como marcador del SM en ausencia de alcoholismo. Sin embargo, la medición de la esteatosis no está suficientemente estandarizada como para poder ser aplicada en la práctica clínica como criterio diagnóstico¹².

Dislipidemia aterogénica

Los trastornos cualitativos y cuantitativos de las lipoproteínas plasmáticas son constantes en el SM y posiblemente son los principales responsables del aumento de la morbimortalidad asociada al mismo. El perfil característico está formado por concentraciones normales o sólo discretamente elevadas de colesterol total, pero con una distribución anómala de partículas con aumento de remanentes de lipoproteínas de muy baja densidad o lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y quilomicrones, aumento de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas, y descenso del colesterol en lipoproteínas de alta densidad (colesterol HDL). EL número total de partículas remanente de LDL está aumentado, por lo que su proteína mayoritaria, la apolipoproteína B (apo B), se encuentra de forma casi constante aumentada, > 125 mg/dl, y es un buen parámetro de diagnóstico y control de la dislipidemia del SM. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) disminuyen de número y se altera su composición predominando también las partículas más pequeñas y densas (HDL3). Asimismo, la concentración de triglicéridos se encuentra habitualmente elevada por aumento de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) pequeñas. Desde el punto de vista clínico, *la concentración de apo B, el colesterol HDL y la concentración de triglicéridos son los parámetros mejor relacionados con la dislipidemia del SM*, pero sólo la medición de los dos últimos parámetros se recomienda en la práctica clínica en el momento actual¹³.

Elevación de la presión arterial

La presión arterial tanto sistólica como diastólica se correlaciona muy bien al grado de obesidad. Asimismo, es frecuente encontrar alteraciones en la glucosa, insulina y metabolismo lipídico entre los pacientes hipertensos. La hiperinsulinemia se ha propuesto como el elemento causal de esta asociación, hecho que se discutirá más adelante. Sin embargo, es el elemento menos metabólico del SM, el menos relacionado con el desarrollo posterior de DM, pero muy importante en la predicción del riesgo cardiovascular total de estos sujetos, por lo que todas las definiciones incluyen la HTA dentro del espectro clínico, diagnóstico y de intervención en el SM¹⁴.

Resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa

La resistencia a la insulina (RI) aparece de forma casi invariable en la mayoría de los sujetos con SM. Para muchos

TABLA 1

Componentes del síndrome metabólico

Obesidad abdominal
Dislipidemia aterogénica
Elevación de la presión arterial
Resistencia periférica a la insulina
Estado proinflamatorio
Estado protrombótico

autores la RI es el denominador común y el nexo del resto de las manifestaciones, por lo que en algunos casos el término síndrome de RI y SM se llegan a utilizar como sinónimos. Sin embargo, la RI no es fácil de medir en la práctica, y sus consecuencias: hiperinsulinismo, glucemia alterada en ayunas o tras sobrecarga oral de glucosa o DM se correlacionan peor con el resto de los elementos del SM, y sobre todo con el riesgo cardiovascular¹⁵. La definición de la OMS requiere la demostración de forma indirecta de RI para llevar a cabo el diagnóstico de SM. Sin embargo, la definición del ATP III considera únicamente la glucemia basal alterada como un criterio más, pero no imprescindible del SM. Para el ATP III es sobre todo un síndrome que asocia riesgo cardiovascular y, de acuerdo al estudio Framingham, en ausencia de DM la demostración clínica de IR no aporta una mayor predicción de riesgo vascular. Este criterio del ATP III permite obviar la realización de una prueba de tolerancia oral a la glucosa en sujetos normoglucémicos pero con sospecha de SM.

Estado proinflamatorio

Es clínicamente demostrable a través del aumento de PCR en sangre. La PCR ha demostrado correlacionarse bien con la obesidad, con los otros elementos del SM y parece ser un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad cardiovascular. Además, la elevación de la PCR podría identificar a un subgrupo de sujetos que van a beneficiarse especialmente del tratamiento farmacológico con estatinas. Sin embargo, se considera todavía como factor de riesgo emergente, sin peso para el diagnóstico del SM y falta por definir si su relación es totalmente independiente de la adiposidad medida por métodos más sencillos⁹.

Estado protrombótico

Está íntimamente relacionado con el estado proinflamatorio y producido vía citocinas como la PCR. Clínicamente se caracteriza por elevación de fibrinógeno, reactantes de fase aguda como la PCR, y del inhibidor tisular del plasminógeno-1 (PAI-1). Ambos están bien relacionados con el riesgo cardiovascular total de estos pacientes de forma independiente de los factores clásicos, pero que no se incluyen por el momento entre los criterios diagnósticos⁹.

Etiopatogenia

En la etiopatogenia del SM se han identificado los siguientes factores⁹:

1. Obesidad y desórdenes del tejido adiposo.
2. Resistencia a la insulina.
3. Liberación de moléculas relacionadas con la inflamación (moléculas de origen hepático, vascular o inmunológico).
4. Otros factores como el envejecimiento y el estilo de vida.

Obesidad y desórdenes del tejido adiposo

En el origen de cada uno de estos elementos intervienen factores genéticos y ambientales, cuya importancia varía de un individuo a otro.

Los mecanismos que justifican la asociación entre obesidad abdominal (visceral) y el SM no son todavía bien conocidos. No obstante, el tejido adiposo con distribución visceral es muy activo en la liberación de moléculas con potencial patogénico en el SM; por ejemplo, ácidos grasos no esterificados, factor de necrosis tumoral α (TNF α), resistina, adiponectina, leptina, el PAI-1, el factor tisular, angiotensinógeno, lipoproteínlipasa e interleucina 6. Estos factores pudieran favorecer la aparición de un estado proinflamatorio, de RI y/o daño endotelial¹⁵.

En el desarrollo de la obesidad los factores genéticos y ambientales están muy ligados; en el primer caso se han descrito varios polimorfismos en genes candidatos que se asocian con una mayor adiposidad, por ejemplo, los genes de la proteína desacoplante de la termogénesis UCP1, del receptor β 3-adrenérgico, del receptor β 2-adrenérgico, el gen de la leptina, el de la proteína adiponectina, el del TNF α y el del neuropéptido Y¹⁶. Se han descrito enfermedades monogénicas raras del tejido adiposo causantes de SM, como la lipodistrofia por mutaciones en el gen de la laminina A/C, AGP-TA y seipina¹⁵.

La dislipidemia aterogénica del SM, como hemos visto, se caracteriza por incremento de los triglicéridos, disminución de colesterol HDL, aumento de los niveles de apo B y de lipoproteínas remanentes y formación de LDL pequeñas y densas^{3,12}. En estado de RI el flujo de ácidos grasos libres (AGL) circulantes hacia el hígado estimula la síntesis de VLDL ricas en triglicéridos, y se producen mayores cantidades de IDL por acción de la lipoproteínlipasa, todo lo cual genera aumento de los niveles séricos de triglicéridos y de apolipoproteína B. La proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) media el intercambio de triglicéridos por colesterol entre las lipoproteínas ricas en triglicéridos y las HDL, con lo cual en estados de sobreproducción de VLDL se potencia el intercambio de lípidos entre estas partículas y se generan lipoproteínas HDL más grandes y ricas en triglicéridos, y cuyo catabolismo por la lipasa hepática está incrementado. Las LDL generadas a partir de las VLDL ricas en triglicéridos están más cargadas de triglicéridos, siendo estos hidrolizados por la lipasa hepática resultando en unas lipoproteínas más pequeñas y más densas con mayor incremento de la proporción de proteínas/lípidos¹². Algunos pacientes con SM pueden tener normotrigliceridemia y colesterol HDL bajo, lo que sugiere algún otro mecanismo que explique la hipoalfalipoproteinemia. Es posible, por ejemplo, que estos individuos tengan triglicéridos normales en ayunas y, sin embargo, presenten una respuesta postprandial alterada a la grasa de la dieta y el incremento del intercambio de lípidos mediado por la CETP ocurra exclusivamente en estado postprandial¹⁷. Por otro lado, el incremento del flujo de AGL hacia el hígado disminuye la síntesis de apolipoproteína A1, la cual es fundamental para el ensamblaje de las HDL. Finalmente, la síntesis del transportador ABCA1 está regula-

da a la baja en estados de RI y ésta es una molécula fundamental en la formación de las HDL, con lo cual se reducen sus niveles séricos¹⁷.

La activación de la inmunidad innata produce cambios en las lipoproteínas plasmáticas, enzimas, proteínas transportadoras y receptores tanto en animales como humanos, específicamente en estos últimos puede producir incremento de la síntesis hepática de VLDL, disminuir su aclaramiento, reducir los niveles de colesterol HDL y modificar su composición⁹. Una de las enzimas que puede incrementar su síntesis durante procesos inflamatorios es la lipasa endotelial cuya actividad sobre los fosfolípidos de las HDL promueve su catabolismo¹⁸.

La hipertensión arterial en el SM puede estar relacionada con la RI y la hiperinsulinemia que genera, pues esta hormona estimula el sistema nervioso simpático lo que provoca vasoconstricción, aumento del gasto cardíaco, activación del sistema renina-angiotensina (RAS) y aumento de la absorción renal de sodio y agua¹². La propia activación del RAS produce disfunción endotelial con crecimiento vascular, disfunción plaquetaria y activación inmunológica e inflamatoria¹². Dell'Omo et al demostraron que en pacientes hipertensos con SM se produce un incremento de la tasa de escape transcápicular de albúmina y, además, un fallo en la respuesta vasodilatadora endotelial dependiente de óxido nítrico y que ambos aspectos pueden ser independientes¹⁹.

Existen evidencias de que la relación entre adiposidad central e hipertensión arterial puede no estar relacionada con los niveles de insulina basales, por lo que se han invocado otros mecanismos para explicar la hipertensión arterial en el SM; por ejemplo, se ha demostrado que el PAI-1 se correlaciona positivamente con la tensión arterial sistólica y diastólica y el tejido adiposo visceral es significativamente más productor de PAI-1 que el subcutáneo por lo que pudiera desempeñar un papel en el desarrollo de hipertensión arterial en estos pacientes²⁰.

La insulina promueve el almacenamiento de energía en forma de lípidos y glucógeno, la biosíntesis de macromoléculas (ácidos nucleicos y proteínas) y sus efectos directos son el incremento de la captación de glucosa (músculo y tejido adiposo), el estímulo de la glucólisis (hígado), estímulo de la síntesis de ácidos grasos y triacilglicérols (hígado y tejido adiposo), inhibe la gluconeogénesis (hígado), incrementa la síntesis de glucógeno (hígado y músculo), incrementa la captación de ácidos grasos (músculo) con activación de la síntesis proteica. Para ejecutar estas acciones, la insulina debe unirse a su receptor, que es una glucoproteína tetramérica con dos subunidades α (735 residuos de aminoácidos) y dos subunidades β (620 residuos de aminoácidos) unidas por puentes disulfuro. La unión de la insulina con su receptor genera cambios conformacionales en este último que permite la autofosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad β del dominio intracitoplasmático (actividad tirosinquinasa) con la consiguiente activación del receptor, con lo cual se suceden una cascada de reacciones de fosforilación y desfosforilación que conducen a la entrada de glucosa al interior de la célula y al resto de las acciones de la insulina²¹.

Resistencia insulínica

La RI se puede generar a tres niveles: prerreceptor, receptor y postreceptor. La causa postreceptor es la más frecuente y sus mecanismos de producción no están muy claros. No obstante, puede existir antagonismo entre las sustancias intracelulares generadas de la unión insulina-receptor y adipocitoquinas derivadas del tejido adiposo. Por ejemplo, el TNF α inhibe la fosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad β del receptor de insulina; o el estrés oxidativo y la disfunción endotelial que acompañan al SM también pueden afectar las señalizaciones intracelulares generadas por la insulina¹⁶. El mecanismo de producción de la RI más conocido es a través del incremento de los AGL, los cuales pueden actuar de dos maneras:

1. El incremento de ácidos grasos en el interior de la célula aumenta la relación acetylCoA/CoA y NADH/NAD⁺ con la consecuente inactivación de la piruvato deshidrogenasa, con lo cual aumentan las concentraciones de citrato y se inhibe la actividad de la fosfofructoquinasa, generando incremento intracelular de glucosa-6-fosfato con lo que se inhibe la actividad de hexoquinasa II con incremento de la concentración intracelular de glucosa y disminución de su captación muscular

2. El otro mecanismo sería que el incremento del flujo de AGL hacia el músculo genere incremento intracelular de metabolitos de ácidos grasos como el acilCoA, diacilglicerol y ceramidas, se activa entonces la cascada de serinas/treoninas quinasa con lo cual se fosforilan los residuos serina/treonina de los sustratos del receptor de insulina (IRS-1, IRS-2), reduciéndose la habilidad de estos sustratos para transmitir la señal de fosforilación generada de la unión insulina-receptor²². Recientemente se ha publicado un estudio realizado en descendientes de pacientes con DM en el cual se demuestra un defecto en la regulación del metabolismo intracelular de ácidos grasos que puede ser causado por un defecto heredado de la fosforilación oxidativa mitocondrial y por tanto, el incremento de flujo de AGL hacia el músculo no sería el verdadero causante del aumento intramiocelular de lípidos²³.

Normalmente en estado postprandial, a partir de los quilomicrones de la dieta se obtienen AGL, y aproximadamente un 50% van hacia los adipocitos y el otro 50% se mantiene circulante en plasma. En pacientes con SM la cantidad de AGL circulantes es mayor; se ha calculado que por cada 100 μ M de incremento plasmático de AGL se produce una reducción de la sensibilidad a la insulina de aproximadamente el 8%, que también puede explicarse por el incremento de los estímulos apoptóticos a las células β pancreáticas generadas por los AGL²⁴. Por otro lado, el exceso de aporte de AGL al hígado puede estimular la síntesis de VLDL, pues constituyen el sustrato para la síntesis de estas lipoproteínas. Los AGL a su vez encuentran dificultad para su almacenamiento periférico por la propia resistencia de la lipasa sensible a insulina y estimulan la producción de PAI-1 con lo cual se favorece un estado protrombótico²⁵.

Se ha demostrado que el exceso de AGL afecta la síntesis de óxido nítrico al inhibir la sintasa constitutiva de óxido nítrico, con lo cual se rompe el equilibrio entre óxido nítrico

co, y endotelina-1 en detrimento del primero, cuyas consecuencias son alteraciones en la reactividad vascular y en la permeabilidad endotelial. Finalmente, el exceso de AGL puede afectar importantes vías intracelulares de transmisión de señales, por ejemplo, la Na/K ATPasa, canales de sodio, potasio y calcio²⁶.

Liberación de moléculas relacionadas con la inflamación

La inflamación crónica subclínica es un componente importante del SM, lo cual está expresado por el aumento en el plasma de estos pacientes de marcadores inflamatorios como la PCR, la cual a su vez puede traer consecuencias negativas como disminuir la angiogénesis, favorecer la apoptosis de células endoteliales, disminuir la supervivencia y diferenciación de células endoteliales progenitoras e incrementar la expresión endotelial de moléculas de adhesión. Anteriormente hemos mencionado varias citocinas que intervienen en la patogénesis del SM las cuales presentan propiedades proinflamatorias y proaterogénicas como el TNF α quien promueve la progresión y vulnerabilidad de la placa a través del estímulo a la secreción de interleucina 18 o protrombóticas como el PAI-1²⁷.

Factores genéticos y síndrome metabólico

Se han descrito polimorfismos en genes cuya existencia en algunos casos se relaciona con la aparición o variación de los elementos que componen el SM: genes relacionados con la obesidad comentados más arriba, genes relacionados con la sensibilidad a la insulina como el gen de receptores nucleares tipo PPAR γ , gen de la glucoproteína de membrana PC-1, el gen de la calpaína 10 que recientemente se ha relacionado con susceptibilidad a DM y genes relacionados con el metabolismo lipídico como el gen de la lipoproteinlipasa, de la lipasa hepática, de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CEBP) y el de la proteína de unión de elementos reguladores de esteroides 1C (SRBP-1C)^{16,28}.

Otra hipótesis que trata de explicar la RI desde el punto de vista de la interacción genes-ambiente es en su relación con el bajo peso al nacer. La subnutrición fetal puede ser negativa para el desarrollo y función de las células β pancreáticas y de los tejidos sensibles a la insulina (*thrifty phenotype hypothesis*) cuya causa pudiera estar relacionada con la activación de genes vinculados con la RI²⁹.

Ambiente y SM

El estilo de vida sedentario y las dietas hipercalóricas ricas en ácidos grasos saturados y con alto contenido de carbohidratos llevan a un desbalance entre la energía aportada y la gastada con la consiguiente adiposidad, obesidad, desarrollo de RI y de SM.

Las neuronas que contienen serotonina están concentradas en los núcleos del rafe del tallo cerebral y se conectan

con la corteza cerebral, el hipotálamo y los núcleos autonómicos donde parecen ejercer función reguladora, influyendo sobre diversos comportamientos como la alimentación, la reproducción, el sueño, el dolor, la termogénesis, ritmo cardíaco y función pancreática. Se ha demostrado una correlación inversa entre respuesta serotoninérgica central a estimulantes como la fenfluramina y la aparición de los componentes del SM, lo cual puede deberse a disfunción de las vías serotoninérgicas en el cerebro, afectando comportamientos como los hábitos alimentarios, la actividad física o ambos, llevando indirectamente a obesidad, RI y SM³⁰.

Fármacos como los corticoides, antidepresivos, antipsicóticos, antihistamínicos pueden generar ganancia de peso y en algunos casos favorecer la intolerancia a la glucosa predisponiendo a padecer SM³¹. Los inhibidores de las proteasas utilizados en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana usualmente generan un SM secundario a la lipodistrofia y RI³².

La infección también puede favorecer el desarrollo de SM y aterosclerosis, al menos teóricamente, por diferentes mecanismos: reactividad cruzada, incremento de citocinas inflamatorias y protrombóticas, disfunción endotelial, disminución de la capacidad antiinflamatoria de las HDL e incremento del tráfico de macrófagos dentro de la pared arterial³³.

La consecuencia final del padecimiento del SM es el desarrollo de aterosclerosis y la aparición de eventos cardiovasculares isquémicos. Por una parte, la influencia genética y, por la otra, los factores ambientales inducen incremento del tejido graso con depósito central y activación de la inmunidad innata, cuya consecuencia es la liberación de citocinas por las células que componen ambos tejidos, liberación de mediadores inflamatorios por parte del hígado en respuesta a estas citocinas, las cuales a su vez ejercen acciones proinflamatorias, proaterogénicas y protrombóticas independientes. Todo lo anterior lleva al desarrollo del SM con expresión de todos o algunos de sus componentes, al desarrollo de aterosclerosis y de eventos cardiovasculares isquémicos¹⁴ (fig. 3).

Diagnóstico del síndrome metabólico

Para intentar delimitar a este síndrome clínico la OMS, a través de un grupo de expertos, propuso en 1999 unos criterios diagnósticos basados en los trastornos de la glucosa basal o tras sobrecarga oral de glucosa en presencia de glucemia normal (tabla 2). También incluyó como criterio la presencia de microalbuminuria, a pesar de que su frecuencia es baja en el SM³⁴. Ese mismo año un grupo de expertos europeos, Grupo Europeo par el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR) propuso unos criterios diagnósticos muy semejantes a los propuestos por la OMS³⁵ (tabla 3). Más recientemente el Panel de Expertos del ATP III ha establecido sus propios criterios³ (tabla 4). La diferencia fundamental de estos criterios está en el posicionamiento de los autores en cuanto a la causa del SM. El ATP III, como hemos visto, no encuentra suficientes evidencias para recomendar la medición rutinaria de la resistencia a la insulina (por ejemplo, insulina plasmática), del estado proinflamatorio (por ejemplo, PCR) o del estado protrombótico (por ejemplo, fibrinógeno

prevenir o al menos retrasar la evolución hacia una DM. El sobrepeso y la obesidad están como elementos causales del SM por lo que las medidas higiénico-dietéticas con reducción calórica y ejercicio físico frecuente para lograr un peso normal son el tratamiento de elección en la primera fase del tratamiento³.

Sobrepeso y obesidad

Todos los pacientes con SM y obesidad o sobrepeso deben seguir una dieta encaminada hacia la reducción del peso. La aproximación ideal es lograr mantener una dieta con un balance negativo de unas 500 calorías al día para intentar conseguir una reducción de aproximadamente un 10% del peso en unos 6 meses. La dieta debe además seguir las normas generales de reducción de colesterol (< 300 mg/día), de grasa saturada (< 10% del total de las calorías), y de grasa total (< 35% de las calorías) recomendadas para el tratamiento de la hipercolesterolemia o la DM³⁶.

No se recomiendan en la actualidad la prescripción de dietas agresivas extremadamente bajas en calorías o con alto contenido en grasa, debido a que muy rara vez consiguen reducciones de peso que se mantengan en el tiempo.

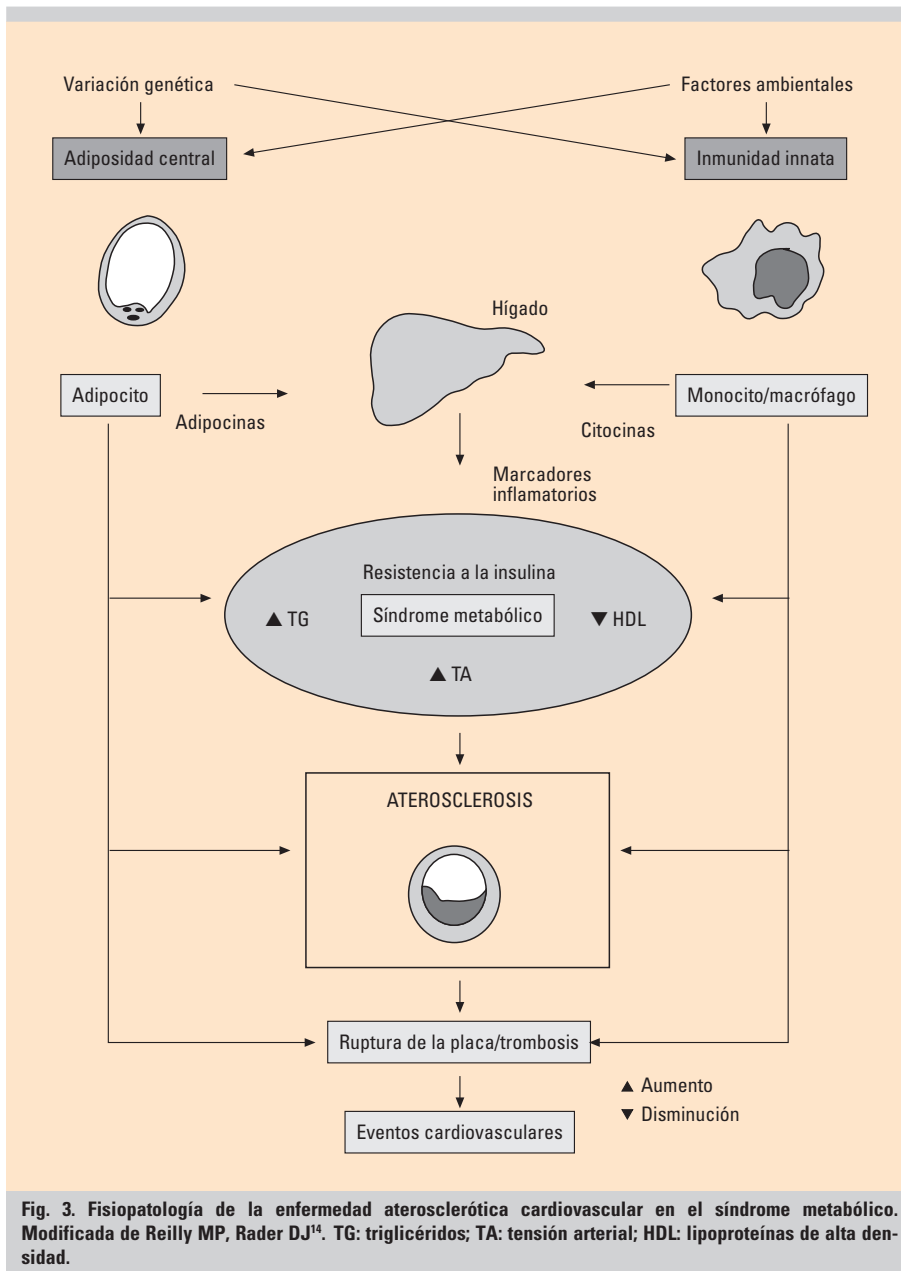
Los depresores del apetito, como la sibutramina, un inhibidor de la recaptación de serotonina, o los inhibidores de la absorción intestinal de grasa, como el orlistat, pueden utilizarse para suplementar

el efecto de la dieta, especialmente en personas poco respondedoras. Es de esperar una pérdida de peso de unos 4 kg con el uso de estos fármacos durante los primeros meses de tratamiento.

Algunos sujetos con IMC > 40 kg/m², o > 35 kg/m² con comorbilidad asociada al SM y que no logren reducciones de peso con la dieta pueden llegar a ser candidatos para cirugía de la obesidad.

Inactividad física

La inactividad física es un hecho común en nuestra sociedad y claro predisponente al desarrollo de obesidad y SM. Un ejercicio físico aeróbico regular debe recomendarse a los sujetos con SM en ausencia de complicaciones mayores para



o PAI-1) para el diagnóstico de síndrome metabólico y recomienda un diagnóstico del SM muy relacionado con el riesgo cardiovascular asociado.

Sin duda, el diagnóstico basado en los criterios del ATP III es más sencillo, y por tanto más fácilmente aplicable a la práctica clínica habitual. Además, como hemos señalado anteriormente, la concordancia entre ambos grupos de criterios (OMS y ATP III) es superior al 80%. Por todos estos motivos la definición propuesta por el ATP III es la más utilizada en la actualidad.

Tratamiento del síndrome metabólico

El tratamiento de las personas con el SM debe perseguir dos objetivos fundamentales: disminuir el riesgo cardiovascular y

TABLA 2

Criterios clínicos para el síndrome metabólico, según la Organización Mundial de la Salud**Insulinorresistencia identificada por uno de los siguientes criterios**

Diabetes tipo 2

Alteración de la glucemia en ayunas

Alteración de la tolerancia a la glucosa

O aquellos con niveles normales de glucemia en ayunas (< 110 mg/dl), captación de glucosa por debajo del menor cuartil para la población de donde proviene el paciente, con hiperinsulinemia bajo condiciones de euglucemia

Más cualquiera de los siguientes criteriosConsumo de medicación antihipertensiva y/o hipertensión arterial (sistólica \geq 140 mmHg o diastólica \geq 90 mmHg)Triglicéridos plasmáticos \geq 150 mg/dl (\geq 1,7 mmol/l)

Colesterol HDL < 35 mg/dl (0,9 mmol/l) en hombres o < 39 mg/dl (1,0 mmol/l) en mujeres

IMC > 30 kg/m² y/o razón cintura:cadera > 0,9 en hombres, > 0,85 en mujeresTasa de excreción urinaria de albúmina \geq 20 μ g/min o razón albúmina:creatinina \geq 30 mg/gIMC: índice de masa corporal.
Tomada de World Health Organization³⁴.

TABLA 3

Criterios clínicos para el diagnóstico del síndrome metabólico/resistencia insulina del Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR)**Insulinorresistencia o insulinemia en ayunas > percentil 75 (en pacientes no diabéticos) y dos o más de las siguientes alteraciones**Hiperoglucemia \geq 110 mg/dlTensión arterial \geq 140/90 mmHg y/o medicación antihipertensiva

Dislipidemia: triglicéridos > 180 mg/dl o colesterol HDL < 40 mg/dl

Obesidad central: circunferencia de cintura > 94 cm en varones o > 80 cm en mujeres

Tomada de Balkau B, et al⁵.

TABLA 4

Diagnóstico del síndrome metabólico, según criterios del ATP III³

Factores de riesgo	Definición
Obesidad abdominal	Perímetro de la cintura
Hombres	> 102 cm
Mujeres	> 88 cm
Triglicéridos	\geq 150 mg/dl
HDL colesterol	
Hombres	< 40 mg/dl
Mujeres	< 50 mg/dl
Tensión arterial	\geq 130/ \geq 85 mmHg
Glucemia en ayunas	\geq 110 mg/dl

Cuando tres de los criterios están presentes, se puede considerar el diagnóstico de síndrome metabólico.

Tomada de la cita bibliográfica 3.

ello. El ejercicio mejora todos los componentes del SM y además contribuye a la pérdida de peso. La recomendación más establecida es la de ejercicio aeróbico moderado-intenso al menos 30 minutos al día, e idealmente más de una hora al día³.

Dislipidemia aterogénica

El tratamiento de los diferentes factores de riesgo que componen el SM no tienen un tratamiento diferencial al propuesto para la población general. Por tanto, en la dislipidemia del SM el objetivo fundamental del tratamiento es el control de la concentración de colesterol LDL de acuerdo al nivel de riesgo cardiovascular a 10 años propuesto por el ATP III³. La dieta y el ejercicio físico también son de elección en el tratamiento de la dislipidemia del SM. Las estatinas son los fármacos hipolipidemiantes de elección para conseguir los objetivos de colesterol LDL si no se han logrado con la alimentación, el ejercicio y la pérdida de peso. En ocasiones las estatinas no llegan a controlar la concentración de triglicéridos o del colesterol HDL y entonces los fibratos o la niacina, solos o en combinación con estatinas pueden estar indicados. El fenofibrato sería el fibrato de elección si hubiera que asociarlo a una estatina, ya que no interfiere con el catabolismo hepático de éstas²⁰.

Hipertensión

Tampoco este factor de riesgo tiene un tratamiento diferente en el SM con respecto a la población general. Si las cifras se encuentran \geq 140/90 mmHg o > 130/80 mmHg en presencia de DM, el tratamiento farmacológico estará indicado. Ningún fármaco antihipertensivo puede considerarse de elección en el SM. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (IECA) y los bloqueadores de la angiotensina (ARA-II) han demostrado ser de utilidad y tener algunas ventajas sobre otros antihipertensivos en sujetos con DM²⁰.

Estado protrombótico

Las actuales recomendaciones de la Asociación Americana del Corazón (*American Heart Association*, [AHA]) indican la administración de antiagregantes plaquetarios, como el AAS, en aquellos pacientes con riesgo coronario superior al 10% en 10 años³⁷. Muchos pacientes con SM debido a la presencia de varios factores de riesgo pueden tener ese nivel de riesgo o superior, por lo que la administración de AAS estará indicada en ellos.

Prevención de la diabetes mellitus

Dos estudios recientes, uno europeo (Estudio Finlandés del Prevención de la Diabetes)³⁸, y otro estadounidense (Programa de Prevención de la Diabetes)³⁹, han demostrado que reducciones discretas en el peso y aumentos en el ejercicio físico en sujetos con RI son capaces de reducir la progresión a DM. En ambos estudios hubo una reducción superior al 50% de la incidencia de DM entre aquellos sujetos que mantuvieron una pérdida de peso a lo largo del estudio. En el estudio americano, la metformina también logró una reduc-

ción del 31% en la progresión a DM, aunque su papel en el SM todavía no está bien establecido.

Los agonistas PPAR- γ o tiazolidindionas son fármacos utilizados en el tratamiento de la DM que mejoran la sensibilidad a la insulina y varios componentes del SM. Todavía no existen estudios con eventos clínicos como objetivo final, por lo que su recomendación en el SM todavía no está establecida. Sin embargo, debido a su mecanismo de acción, sensibilizando a la insulina y conservando la función de la célula beta pancreática han demostrado ser muy eficaces en la prevención de DM en mujeres con historia de diabetes gestacional, y con evidencia de tolerancia anormal a la glucosa por RI⁴⁰.

Bibliografía

● Importante ●● Muy importante

✓ Metaanálisis

✓ Ensayo clínico controlado

✓ Epidemiología

1. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1.595-607.
2. Groop L, Orho-Melander M. The dysmetabolic syndrome. *J Intern Med* 2001;250:105-20.
3. ●● Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.
4. ● Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 2003;52:1210-4.
5. Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, et al. European Group For The Study Of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* 2002;28:364-76.
6. Álvarez Leon EE, Ribas Barba L, Serra Majem L. Prevalencia del síndrome metabólico en la población de las Islas canarias, España. *Med Clin (Barc)* 2003;120:172-4.
7. Lorenzo C, Serrano-Ríos M, Martínez-Larrad MT, Gabriel R, Williams K, Gómez-Gerique JA, et al. Central adiposity determines prevalence differences of the metabolic syndrome. *Obes Res* 2003;11(12):1480-7.
8. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288:2709-16.
9. ●● Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433-8.
10. Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:3120-7.
11. Isomaa B. A major health hazard: the metabolic syndrome. *Life Sci* 2003;73:2395-411.
12. Scott CL. Diagnosis, prevention, and intervention for the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2003;92(1A):35i-42i.
13. Ayyobi AF, Brunzell JD. Lipoprotein distribution in the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and familial combined hyperlipidemia. *Am J Cardiol* 2003;92:27J-33J.
14. Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts?. *Circulation* 2003;108:1.546-51.
15. ● Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr, Cleeman JI, Kahn KA; for Conference Participants. Clinical Management of Metabolic Syndrome Report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association Conference on Scientific Issues Related to Management. *Circulation* 2004;109:551-6.
16. Martínez Calatrava MJ, Martínez Lerrad MT, Serrano Ríos M. Síndrome de resistencia a la insulina y síndrome metabólico: similitudes y diferencias. *Síndrome metabólico: concepto, fisiopatología y epidemiología. Cardiovascular Risk Factors* 2003;12(2):89-95.
17. Shaw JE, Chisholm DJ. Epidemiology and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Med J Aust* 2003;179:379-83.
18. Cox LA, Birnbaum S, Vandeberg JL. Identification of candidate genes regulating HDL cholesterol using a chromosomal region expression array. *Genome Research* 2002;12:1.693-702.
19. Dell'Omio G, Penno G, Pucci L, Mariani M, Del Prato S, Pedrinelli R. Abnormal capillary permeability and endothelial dysfunction in hypertension with comorbid Metabolic Syndrome. *Atherosclerosis* 2004;172:383-9.
20. Ginsberg HN. Treatment for patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2003;91:29E-39E.
21. Mathews CK, van Holde KE. Coordinación metabólica, control metabólico y transducción de señal. En: *Bioquímica*. 2nd. ed. Editorial Mc Graw - Hill interamericana; 1998;p. 905-52.
22. Shulman G. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:171-6.
23. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, García G, Shulman GI. Impaired Mitochondrial Activity in the Insulin-Resistant Offspring of Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2004;350:664-71.
24. Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, Unger RH. Fatty acid-induced β cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:2.498-502.
25. Nilsson L, Banfi C, Diczfalusy U, Tremoli E, Hamsten An, Eriksson P. Unsaturated fatty acids increase plasminogen activator inhibitor-1 in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1.679-85.
26. Ordway RW, Singer JJ, Walsh JV. Direct regulation of ion channels by fatty acids. *Trends Neurosci* 1991;14:96-100.
27. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease. *Circulation* 2003;108:2054-9.
28. Ducluzeau PH, Perretti N, Lavilla M, Andreelli F, Vega N, Riou JP, et al. Regulation by Insulin of Gene Expression in Human Skeletal Muscle and Adipose Tissue. Evidence for Specific Defects in Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2001;50:1134-42.
29. Phipps K, Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Clark PM. Fetal growth and impaired glucose tolerance in men and woman. *Diabetologia* 1993;36(3):225-8.
30. Muldoon MF, Mackey RH, Williams KV, Korytkowski MT, Flory JD, Manuck SB. Low Central Nervous System Serotonergic Responsivity Is Associated with the Metabolic Syndrome and Physical Inactivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:266-71.
31. Zimmermann U, Kraus T, Himmerich H, Schuld A, Pollmacher T. Epidemiology, implications and mechanisms underlying drug-induced weight gain in psychiatric patients. *J Psychiatr Res* 2003;37(3):193-220.
32. Kino T, Mirani M, Alessi S, Chrousos GP. AIDS-related lipodystrophy/insulin resistance syndrome. *Horm Metab Res* 2003;35(3):129-36.
33. Madjid M, Naghavi M, Litovsky S, Casscells SW. Influenza and Cardiovascular Disease. A New Opportunity for Prevention and the Need for Further Studies. *Circulation* 2003;108: 2730-6.
34. ● World Health Organisation. Report of a WHO consultation: definition of metabolic syndrome in definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and its complications. I. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *World Health Organisation, Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva, 1999*
35. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999;16:442-3.
36. Grundy SM, Abate N, Chandalia M. Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake? *Am J Med* 2002;113 (Suppl 9B): 25S-29S.
37. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, et al. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee. *Circulation* 2002;106:388-91.
38. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001;344:1343-50.
39. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346:393-403.
40. Buchanan TA, Xiang AH, Peters RK, Kjos SL, Marroquin A, Goico J, et al. Preservation of pancreatic beta-cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in high-risk hispanic women. *Diabetes* 2002;51:2796-803.

Hipolipoproteinemias: abetalipoproteinemia, hipobetalipoproteinemia e hipoalfalipoproteinemia

E. Bustamante-Rodríguez, E. Meriño-Ibarra, M. Pocoví-Mieras y F. Civeira-Murillo

aServicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España.

bDepartamento de Bioquímica Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.

ABETALIPOPROTEINEMIA (SÍNDROME DE BASSEN- KORNZWEIG)

La abetalipoproteinemia (ABL) es una enfermedad de transmisión autosómica recesiva que se caracteriza por malabsorción de grasas, hipolipoproteinemia, acantocitosis, retinopatía y deterioro neurológico progresivo¹.

Etiopatogenia

La ABL está causada por defectos en alguna de las proteínas involucradas en el ensamblaje, procesamiento o secreción de las lipoproteínas que contienen la apoproteína (apo) B, como los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)¹. El defecto más frecuente asociado a ABL se encuentra en el gen de la proteína microsomal transferidora de triglicéridos (MTP, *microsomal triglyceride transfer protein*). Se han descrito alrededor de 20 mutaciones en este gen que producen un fenotipo de ABL². Esta proteína se asocia físicamente a la apo B probablemente a su región N-terminal y transfiere triglicéridos y ésteres de colesterol durante el proceso de ensamblaje de las lipoproteínas que contienen apo B, por lo que es fundamental en el primer paso de su génesis³.

La consecuencia metabólica de estos defectos es la virtual ausencia en plasma de los

quilomicrones y de las lipoproteínas de la cascada de las VLDL. En consecuencia, la concentración plasmática de triglicéridos son unos pocos miligramos por decilitro que incluso no aumentan después de la ingestión de grasa. Las concentraciones de colesterol total se sitúan entre 20 y 45 mg/dl, y las del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y apo B pueden no ser detectables (tabla I)^{1,2}.

En ausencia de apo B, la apo E se convierte en el único ligando del receptor de apo B-100/E, y el aclaramiento de las partículas que contienen apo E aumenta. Este hecho probablemente contribuya a explicar la deficiencia de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en la ABL, donde la HDL sustituye a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el aporte del colesterol a los tejidos periféricos, por ejemplo para la esteroidogénesis, con una alta eficiencia, como si hubiera concentraciones de cLDL de 100 mg/dl¹.

La imposibilidad para la biogénesis de quilomicrones genera malabsorción de grasas y, con ella, de varias vitaminas liposolubles, especialmente de tocoferol, pues entra en el sistema portal formando parte de los quilomicrones. La mayor parte del tocoferol del plasma se encuentra en las LDL y llega a los tejidos periféricos por endocitosis vía receptor de LDL, por lo que la deficiencia de vitamina E es considerable incluso ante su-

TABLA I. Concentraciones plasmáticas de lípidos y apolipoproteínas en un caso índice de abetalipoproteinemia y de su familia

Sujetos	Edad	CT	TG	cLDL	cHDL	Apo B	Apo A-I
Caso índice	3	48	11	ND	45	ND	71
Madre	32	186	245	88	49	77	177
Padre	32	219	203	149	29	94	118

Valores expresados en mg/dl.

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; Apo: apolipoproteína; ND: no detectable. De Di Leo et al².

plementos orales o parenterales de dicha vitamina¹. La deficiencia en tocoferol puede explicar algunas de las manifestaciones neuromusculares y oculares de la ABL⁴.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico

Manifestaciones hematológicas

Lo más llamativo es la acantocitosis, que involucra hasta al 50% de los eritrocitos circulantes y que no se detectan en la médula ósea. Esta forma de los eritrocitos inhibe su "rodillo" y comporta una velocidad de sedimentación globular muy baja¹.

La vida media de los eritrocitos está disminuida y puede producirse un síndrome hemolítico que no suele ser la principal causa de anemia en la ABL, sino que se produce por deficiencia de hierro, folatos y de otros nutrientes, todo ello secundario a la malabsorción de grasas. En este mismo sentido, la deficiencia de vitamina K produce prolongación del tiempo de protrombina.

Manifestaciones gastrointestinales

La malabsorción de grasas es el elemento fisiopatológico central en la ABL. Suele presentarse en el período neonatal con vómitos, diarreas y pobre ganancia de peso. La malabsorción de grasas produce malabsorción de vitaminas liposolubles (A, D, E, K), con su consiguiente deficiencia sistémica¹.

Manifestaciones neuromusculares

Las manifestaciones neuromusculares en la ABL la sitúan en el grupo de síndromes hereditarios degenerativos espinocerebelosos. El primer signo neurológico es la disminución de los reflejos osteotendinosos, con posterior pérdida de la sensibilidad vibratoria y propioceptiva, así como marcha atáxica¹. El signo de Romberg es frecuentemente positivo y los pacientes sin tratamiento no son capaces de mantenerse en pie a partir de la tercera década de la vida. La dismetría y la disartria son comunes, así como las contracturas musculares; estas últimas conducen a pie cavo, pie equinovaro y cifoescoliosis¹.

Manifestaciones oculares

La principal manifestación es la degeneración retiniana pigmentaria. El inicio de los síntomas es variable, la pérdida de la agudeza visual puede estar comprometida desde la primera década de la vida, pero pueden mantenerse asintomáticos hasta la edad adulta. El síntoma de presentación inicial puede ser la pérdida de la visión nocturna y de los colores⁵.

En resumen, las manifestaciones clínicas se dan en un paciente con valores bajos de li-

poproteínas plasmáticas, por lo que el diagnóstico de esta enfermedad se basa en 3 pilares: manifestaciones clínicas y analíticas de la enfermedad (anteriormente descritas), el árbol genealógico, que expresa una enfermedad cuya transmisión es autosómica recesiva, y el análisis molecular del gen de la MTP para la búsqueda de mutaciones.

Tratamiento

Medidas no farmacológicas

- Restricción de los triglicéridos de la dieta, especialmente los que contienen ácidos grasos de cadena larga, hasta valores de 15 g diarios.
- La administración de triglicéridos de cadena media puede ayudar en niños extremadamente malnutridos, pero no debe ser una medida rutinaria debido a su asociación con fibrosis hepática.

Medidas farmacológicas

- Administración de 1-2 g/día de vitamina E para niños pequeños y de 5-10 g/día para niños mayores y adultos. Con esta medida se puede detener la progresión e incluso evitar la aparición de algunas manifestaciones neuromusculares y oculares.
- Administración de suplementos de vitaminas A, β -carotenos y vitamina K.

HIPOBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIAR

La hipobetalipoproteinemia familiar (HBF) es un trastorno hereditario autosómico codominante que afecta a las lipoproteínas que contienen apo B¹. La característica más destacable de los individuos con HBF es la presencia de concentraciones de colesterol total, cLDL y apo B por debajo del percentil 5 de la distribución en la población general.

Las causas secundarias de hipobetalipoproteinemia suelen ser consecuencia de diversos factores, como dietas vegetarianas estrictas o enfermedades que comportan malabsorción intestinal, entre las que cabe mencionar el hipertiroidismo, la enfermedad hepática grave, la pancreatitis crónica o la malnutrición⁶.

Etiopatogenia

En la mayoría de casos de HBF primaria el defecto genético es desconocido y puede o no asociarse con el gen de la apo B⁷. Los casos mejor caracterizados de HBF son los que se deben a mutaciones en el gen de la apo B, localizado en el cromosoma 2. Este

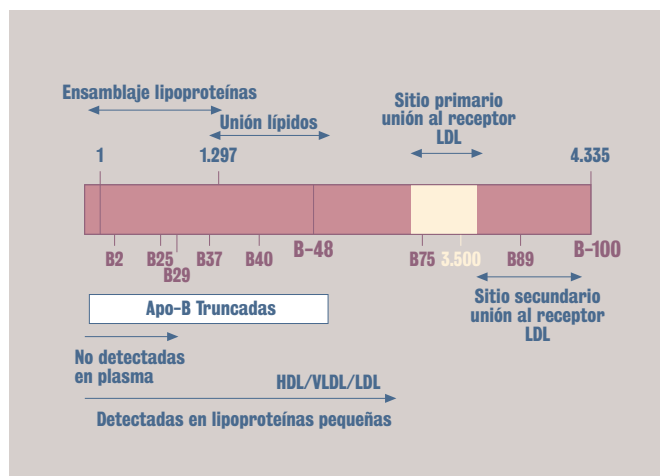


Figura 1. Mapa esquemático de apo B con mutaciones que producen hipobetalipoproteinemia.

gen codifica 2 proteínas, una de procedencia hepática, de 4.536 aminoácidos, conocida como apo B-100, y otra de procedencia intestinal, de 2.152 aminoácidos, denominada apo B-48. Esta última es el resultado de un proceso de editado intestinal del ARN mensajero que convierte el codón 2135 en un codón de parada⁸. Las mutaciones del gen de apo B que conducen a la formación de codones de parada, “sin sentido”, o cambio de pauta de lectura, “frameshift”, producen formas truncadas de apo B y son causa de HBF. Las formas truncadas de apo B se designan con la nomenclatura porcentual relativa a la apo B-100. En la actualidad se han descrito más de 50 formas truncadas de apo B, algunas tan cortas como la apo B-2 y otras muy largas, tales como la apo B-89. Nuestro grupo ha identificado 3 formas truncadas (apo B-9, apo B-12 y apo B-53) en pacientes españoles con HBF⁹. Las formas truncadas inferiores a la apo B-27 no se detectan en el plasma de los pacientes, probablemente debido a una baja producción y/o a una rápida degradación (fig. 1).

La HBF es muy heterogénea, y no todas las causas de HBF se deben a formas truncadas de apo B. Recientemente se ha descubierto otro gen situado en el cromosoma 1, denominado *PSCK9*, relacionado con la HBF que codifica una serinproteasa conocida con el nombre de NARC-1 (*neural apoptosis-regulated convertase 1*)¹⁰. El sustrato de esta proteasa es desconocido, pero se especula que está relacionada con la degradación del receptor de las LDL. Las mutaciones en *PSCK9* pueden causar tanto hipercolesterolemia como hipobetalipoproteinemia. Las mutaciones que producen ganancia de función cursan con hipercolesterolemias autosómicas dominantes, mientras que las mutaciones de pérdida de función, tales como

los codones de parada, se asocian con reducciones significativas del colesterol total y cLDL. Dos mutaciones de codón de parada, Y142X y C679X, en el gen *PSCK9* que son frecuentes en los afroamericanos (2%) y poco frecuentes en europeos (menos de 0,1%), reducen en un 40% las cifras de cLDL¹⁰. Algunos pacientes presentan un fenotipo clínico idéntico al de la HBF, que es consecuencia de un defecto combinado situado en el gen de la proteína MTP².

Clínica

La gran mayoría de sujetos HBF heterocigotos son asintomáticos o presentan una sintomatología leve, y la única característica diferencial es la presencia de concentraciones plasmáticas bajas de cLDL y de apo B. Los efectos a largo plazo del cLDL bajo sobre la salud y longevidad de los heterocigotos no se conoce con precisión¹. Mediante resonancia magnética nuclear se ha observado que la mayoría de sujetos heterocigotos con HBF y apo B truncadas tienen una esteatosis hepática; por término medio, la grasa hepática en los sujetos heterocigotos de HBF es 5 veces superior a la de los controles (tabla II)¹¹.

Algunos sujetos heterocigotos de HBF tienen heces blandas debido a una malabsorción intestinal parcial, mientras que los homocigotos o heterocigotos compuestos presentan una malabsorción grave de grasa de la dieta y vitaminas liposolubles. Esta malabsorción puede ocasionar secuelas importantes en la infancia y la y adolescencia, tales como retraso en el crecimiento, anemia, acantocitosis, ataxia y retinitis pigmentosa, que configuran un cuadro similar a la ABL.

Diagnóstico

El diagnóstico clínico se basa en la presencia de concentraciones de colesterol total,

TABLA II. Principales características de la hipobetalipoproteinemia

Herencia: Autosómica codominante
Frecuencia: Desconocida
Lípidos plasmáticos
Heterocigotos: CT bajo (40-180 mg/dl), TG bajos (15 mg/dl- normales)
Homocigotos: igual que abetalipoproteinemia
Clínica
Homocigotos: acantocitosis, malabsorción intestinal, manifestaciones neuromusculares, retinitis pigmentosa
Heterocigotos: esteatosis hepática, anomalías menores en mucosa intestinal
Defecto genético
Mutaciones en gen de apo B que producen formas truncadas de la proteína
Mutaciones de pérdida de función en PCSK9
Otros loci desconocidos

CT: colesterol total; TG: triglicéridos.

cLDL y apo B por debajo del percentil 5, una vez descartadas las causas secundarias de hipobetalipoproteinemia. Es importante realizar un estudio familiar para descartar la ABL, que mostrará una herencia autosómica dominante.

El diagnóstico clínico puede confirmarse, en algunos casos, mediante el estudio molecular de proteínas o de material genético. Las especies truncadas de apo B pueden detectarse en las VLDL y las LDL, e incluso en algunos casos pasan a formar parte de las HDL. La forma de detección de estas proteínas truncadas es, una vez obtenido el plasma con inhibidores de proteasas, separar las lipoproteínas por ultracentrifugación y analizar las especies de apo B mediante electroforesis desnaturizante en gradiente de poliacrilamida. Esta técnica permite determinar el peso molecular de la especie truncada. Una vez conocido su peso molecular, se identifica el lugar específico de la mutación mediante la secuenciación del ADN correspondiente. Sin embargo, dado lo laborioso y complejo de esta técnica de obtención de apo B truncadas, el hecho de que algunas de ellas no se detecten en el plasma y que no todas las HBF se deben al gen de apo B, en la actualidad es preferible la búsqueda de mutaciones en los genes de apo B y PCSK9⁹.

Tratamiento

Los trastornos gastrointestinales responden a las dietas con restricción de triglicéridos de ácidos grasos de cadena larga. Los ácidos grasos de cadena media se absorben en el intestino y son transportados unidos a la albúmina a través del sistema portal y, por lo tanto, no precisan la formación de quilomicrones. Estos ácidos grasos de cadena media sólo aportan energía, pero no son esenciales y, como hemos señalado, no se recomienda su uso rutinario.

Dado que estos pacientes pueden presentar un déficit de vitaminas liposolubles, pueden requerir suplementos de las mismas. En individuos heterocigotos pueden estar indicados suplementos de cantidades moderadas de vitamina E para prevenir el desarrollo de síntomas neurológicos. Por otra parte, la restricción de la grasa de la dieta en individuos heterocigotos sólo debe plantearse si hay evidencia de malabsorción o urolitiasis oxálica¹.

HIPOALFALIPOPROTEINEMIAS

La hipoalfalipoproteinemia se define por la existencia de una concentración plasmática baja de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Por tanto, cHDL bajo e hipoalfalipoproteinemia son sinónimos. Tradicionalmente se ha considerado cHDL bajo cuando las concentraciones son inferiores al percentil 10 de la distribución en una determinada población, que deben ajustarse por la edad y, sobre todo, por el sexo, debido a las importantes diferencias en la concentración de cHDL entre varones y mujeres. En España dicho percentil se encuentra en torno a 35 mg/dl en los varones y a 42 mg/dl en las mujeres, todo ello en la edad adulta¹². Sin embargo, a efectos prácticos es mucho más importante definir cHDL bajo basándose en el riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular. Aunque la relación inversa entre enfermedad coronaria y cHDL es continua, el National Cholesterol Education Program (NCEP), en el informe del ATP III ha definido el cHDL bajo como concentraciones inferiores a 40 mg/dl con el objetivo de ganar sensibilidad en la predicción de riesgo cardiovascular y señalar la importancia del mismo¹³. Ello quiere decir que aproximadamente un tercio de los varones y una quinta parte de las mujeres adultas tienen hipoalfalipoproteinemia.

Etiopatogenia

El metabolismo de las partículas HDL es muy complejo y su concentración plasmática, incluida la hipoalfalipoproteinemia, es el resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales. A pesar de ello, las hipoalfalipoproteinemias se clasifican en primarias o secundarias teniendo en cuenta los factores responsables más importantes (tabla III).

Enfermedad de Tangier

La enfermedad de Tangier es una enfermedad rara (se han descrito unos 60 casos) que se caracteriza por una deficiencia casi com-

TABLA III. Clasificación de las hipoalfalipoproteinemias

Hipoalfalipoproteinemias primarias	Gen responsable
Aisladas	
Enfermedad de Tanger	ABCA1 (homocigotos)
Hipoalfalipoproteinemia familiar	ABCA1 (heterocigotos)
Enfermedad de Gaucher	Glucocerebrosidasa (heterocigotos)
Deficiencia familiar de apo A-I	Apo A-I
Apo A-I anormales	Apo A-I
Asociadas a hipertrigliceridemia	
Deficiencia de LCAT	LCAT
Hiperlipemia familiar combinada	USF1?
Hiperquilomicronemias	LPL, apo C-II
Hipoalfalipoproteinemias secundarias	
Asociadas a hipertrigliceridemias secundarias	
Diabetes mellitus descompensada	
Consumo excesivo de alcohol	
Insuficiencia renal crónica	
Pancreatitis aguda	
Estrógenos	
Asociadas a factores exógenos reductores de cHDL	
Obesidad	
Síndrome metabólico	
Tabaquismo	
Fármacos: andrógenos, anabolizantes, diuréticos...	
Ingestas muy pobres en grasas	
Enfermedades caquetizantes: cáncer, enfermedades crónicas graves	
Ayuno prolongado	
Vegetarianos	
Enfermedades inflamatorias o infecciosas agudas y crónicas	
Colagenosis	
Artritis reumatoide	
Sida	
Fiebre prolongada	
Sepsis	

LCAT: lecitín-colesterol aciltransferasa; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad.

pleta de cHDL y se asocia a concentraciones bajas de colesterol total, cLDL, apo A-I y apo B, y concentraciones aumentadas de triglicéridos. Clínicamente se asocia con hipertrofia amigdal, adenomegalias, hepatosplenomegalia, polineuropatía periférica y riesgo aumentado de enfermedad coronaria prematura de unas 6 veces sobre la población general¹⁴. El descenso en apo A-I se debe al catabolismo muy rápido de la partícula HDL. Todas las manifestaciones se deben al depósito aumentado de ésteres de colesterol en las células macrofágicas a causa del flujo deficiente de colesterol. La enfermedad de Tangier se debe a mutaciones en el gen que codifica la proteína ABCA1. La ABCA1 pertenece a una familia de proteínas de membrana que sirven a la célula para el transporte activo de diferentes sustancias con consumo de energía. Todas comparten un dominio de unión a ATP conocido como *ATP-binding cassette* y dominios transmembrana. La ABCA1 se encarga del transporte de colesterol libre y fosfolípidos desde la membrana celular hasta la partícula HDL. En la enfermedad de Tangier se produce el defecto en las fases iniciales del transporte reverso, al ser incapaces las células de donar a las HDL el colesterol sobrante.

Hipoalfalipoproteinemia familiar

Al estudiar el metabolismo lipídico en sujetos que habían padecido un infarto de miocardio prematuro resultó evidente que el trastorno más frecuente, presente en torno al 40% de los pacientes, era el cHDL bajo¹⁵, y frecuentemente la hipoalfalipoproteinemia era la única anomalía lipídica encontrada. Al estudiar a las familias se encontró que en aproximadamente el 10% de los casos el cHDL bajo tenía una presentación familiar y una transmisión autosómica dominante¹⁶. Este nuevo síndrome, denominado hipoalfalipoproteinemia familiar, se caracteriza por concentraciones de cHDL en torno a 20-35 mg/dl –es decir, un 50% de la concentración normal–, descensos proporcionales en apo A-I y normalidad en el resto de parámetros lipídicos y riesgo aumentado de enfermedad coronaria prematura. Al identificarse que el gen *ABCA1* es responsable en homocigosidad de la enfermedad de Tangier, se ha estudiado la repercusión de dichas mutaciones en sujetos heterocigotos para dichas mutaciones. Los sujetos heterocigotos para mutaciones funcionales en el gen *ABCA1* tienen una concentración de cHDL aproximadamente la mitad que los sujetos control y multiplican por 3,5 el riesgo de enfermedad coronaria prematura. En aproximadamente

el 75% de los heterocigotos, el cHDL se sitúa por debajo del percentil 10. Por tanto, el gen *ABCA1* es responsable de la enfermedad de Tangier y de un grupo de hipoalfalipoproteinemias familiares, posiblemente de las que cursan con concentraciones más bajas de cHDL y presencia de enfermedad coronaria precoz. Sin embargo, la mayor parte de sujetos con cHDL bajo de forma aislada no tienen mutaciones en *ABCA1*, lo que implica que este fenotipo es heterogéneo desde el punto de vista genético.

Deficiencia familiar de apolipoproteína A-I y variantes de apo A-I

Este grupo de hipoalfalipoproteinemias se caracteriza por mutaciones en el gen de la apo A-I que impiden su producción de forma completa o crean una proteína disfuncional, habitualmente con un catabolismo aumentado, lo que en ambas situaciones lleva a concentraciones muy bajas de cHDL. Existen unas 60 mutaciones diferentes en el gen de la apo A-I, aunque no todas ellas se acompañan de cHDL bajo. Desde el punto de vista lipídico, los sujetos homocigotos se caracterizan por concentraciones nulas de apo A-I y concentraciones inferiores a 5 mg/dl de cHDL en los homocigotos, y concentraciones en torno al 50%, tanto de apo A-I como de cHDL, en los heterocigotos. La mayor parte de las mutaciones de apo A-I se han descrito en una única familia y en heterocigosidad. La enfermedad coronaria se ha descrito asociada a los casos con deficiencia completa, pero no está presente en todos los casos de variantes de la apo A-I. Junto a la lesiones de arteriosclerosis, algunas mutaciones en el gen de apo A-I se acompañan de cataratas, arco corneal, xantomas planos, nefropatía, neuropatía periférica y amiloidosis. El mecanismo de estas manifestaciones sistémicas no está bien establecido. Dentro de las variantes de apo A-I destacamos 2 de ellas: apo A-I Milano y apo A-I Zaragoza.

Apo A-I Milano. Consecuencia del cambio de una arginina por cisteína en posición 173. Se encontró en varias decenas de sujetos de una zona del norte de Italia, y se caracteriza por concentraciones en torno a 20 mg/dl de cHDL, aumento de su catabolismo y sin alteraciones clínicas relevantes¹⁷. Esta forma mutada de apo A-I tiende a polimerizarse, parece promover el flujo de colesterol celular y se acompaña de protección frente a la arteriosclerosis, por lo que se ha propuesto como tratamiento de la arteriosclerosis.

Apo A-I Zaragoza. Se trata de una mutación en el exón 4 del gen de la apo A-I que cambia la leucina en posición 144 por arginina

(L144R). El probando era un varón de 37 años con cifras de cHDL del 40% de la población control. Pudo estudiarse a la familia y se encontró una perfecta cosegregación entre la variante de apo A-I y la hipobetalipoproteinemia en esta familia. Esta variante provoca una velocidad de catabolismo de apo A-I y apo A-II más de 2 veces superior a los controles, lo que induce a una producción aumentada de apo A-I. No se encontró ninguna evidencia de enfermedad coronaria en la familia, posiblemente debido a que un catabolismo rápido de las partículas, junto con una síntesis mayor, permite a estos sujetos un transporte reverso de colesterol normal¹⁸.

Enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher es una enfermedad autosómica recesiva de presentación clínica variable producida por depósito de glucosilceramida en los lisosomas de las células del sistema mononuclear fagocítico, secundaria a mutaciones en el gen de la beta-glucocerebrosidasa ácida (GBA). Es una enfermedad rara, pero el estado de portador, es decir, sujetos heterocigotos para mutaciones funcionales en el gen de la GBA, es relativamente frecuente y se calcula en torno al 1% de la población no judía¹⁹. Nuestro grupo ha demostrado que el *locus* del gen de GBA es responsable del 20% de la variación genética en la concentración de cHDL, y que un gran número de portadores asintomáticos de la enfermedad de Gaucher y la casi totalidad de los enfermos presentan hipoalfalipoproteinemia¹⁹.

Hipoalfalipoproteinemias secundarias asociadas a hipertriglicéridemias secundarias

Se observan en enfermedades sistémicas en las que hay incremento de las concentraciones séricas de triglicéridos como la diabetes mellitus descompensada, el consumo excesivo de alcohol, la insuficiencia renal crónica, la pancreatitis aguda o el consumo de estrógenos.

Hipoalfalipoproteinemias secundarias asociadas a factores exógenos reductores de cHDL

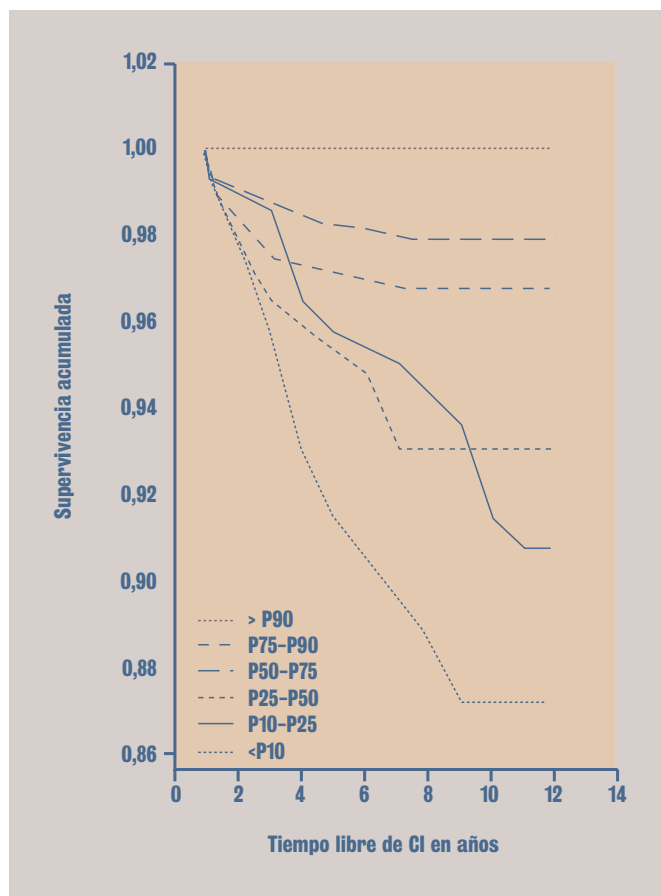
Tales como la obesidad, el síndrome metabólico, el consumo de tabaco, y fármacos como el probucol, los bloqueadores β -adrenérgicos, los corticosteroides o los andrógenos.

Hipoalfalipoproteinemia asociada al síndrome metabólico

El síndrome metabólico se define por la presencia simultánea de trastornos del metabo-

Figura 2. Curva de supervivencia libre de cardiopatía isquémica (CI) según estratos de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) en un grupo de varones españoles seguidos durante 12 años. Cada estrato corresponde a percentiles:

< P10: cHDL < 30 mg/dl
P10-P25: cHDL 30-34 mg/dl
P25-P50: cHDL 35-40 mg/dl
P25-P75: cHDL 41-49 mg/dl
P75-P90: cHDL 50-56 mg/dl
> P90: cHDL > 56 mg/dl
(De Bustamante²², con autorización.)



lismo de la glucosa, dislipoproteinemia, hipertensión arterial, hipercoagulabilidad plasmática y aumento de la actividad inflamatoria, todo ello asociado a obesidad de predominio abdominal. La principal importancia del síndrome metabólico es el elevado riesgo cardiovascular y de desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en los sujetos que lo padecen²⁰.

De los trastornos del metabolismo lipídico que acompañan al síndrome metabólico, el cHDL bajo es uno de los parámetros más constantes y que comportan mayor riesgo cardiovascular. Se produce por un hipercatabolismo de las partículas HDL asociado a un aumento de la actividad de la enzima lipasa hepática²⁰. Debido a la alta prevalencia de síndrome metabólico en nuestro medio, la hipoalfalipoproteinemia asociada al mismo es la causa más frecuente de cHDL en la actualidad, y posiblemente la de mayor importancia clínica, ya que identifica a sujetos de alto riesgo cardiovascular.

Clínica

El cHDL bajo no se asocia *per se* a ninguna manifestación clínica en la mayor parte de las ocasiones. Los defectos familiares graves

pueden presentar esplenomegalia, xantomas planos, anemia y alteraciones neurológicas (véase más arriba). Pero el cHDL bajo es un factor de riesgo cardiovascular independiente, potente, acumulativo a otros factores de riesgo, bien establecido en la bibliografía médica y el mejor predictor de episodios dentro del metabolismo lipídico. La presencia de un cHDL bajo comporta un riesgo cardiovascular, especialmente de enfermedad coronaria, entre 2 y 4 veces superior en los sujetos que lo padecen (fig. 2), y por eso tiene una gran importancia clínica^{21,22}. Además, el cHDL es un criterio diagnóstico del síndrome metabólico, y por ese motivo debe solicitarse su determinación en todos los sujetos que precisen un cálculo de riesgo cardiovascular o con sospecha de síndrome metabólico.

Los mecanismos que se han propuesto, asociados con las partículas HDL y que serían responsables de su relación inversa frente a la arteriosclerosis, son variados e incluyen una acción antiinflamatoria y antioxidante sobre la pared vascular, principalmente por la capacidad de reducir lípidos oxidados transferidos desde las LDL²³. Sin embargo, la función antiaterogénica mejor aceptada

sería la de ser elemento clave en el transporte reverso de colesterol, es decir, la vehiculización de colesterol desde los tejidos periféricos, principalmente macrófagos vasculares, hasta el hígado para su posterior excreción biliar o reutilización en la síntesis de nuevas lipoproteínas²⁴.

Tratamiento

Las intervenciones dirigidas a cambiar los estilos de vida son el pilar fundamental del tratamiento del cHDL bajo, muy especialmente el asociado al síndrome metabólico. La abstinencia del consumo de tabaco, la pérdida de peso en caso de obesidad y el ejercicio físico moderado han demostrado ser herramientas muy útiles no sólo para elevar la concentración de cHDL, sino, y mucho más importante, para reducir las enfermedades cardiovasculares y el riesgo de diabetes²⁵.

Las principales recomendaciones nacionales e internacionales para la prevención del riesgo cardiovascular identifican al cHDL como un buen marcador de riesgo, pero no como objetivo terapéutico, al menos como objetivo terapéutico principal, como es el caso del cLDL, o del colesterol no HDL si hay hipertrigliceridemia¹³. Es decir, que en sujetos con cHDL bajo la medida terapéutica con fármacos más eficaz, por el momento, consiste en reducir la concentración de cLDL hasta valores normales habitualmente con el uso de estatinas¹².

Además, los diferentes ensayos clínicos realizados con fármacos que incrementan de forma clínicamente significativa la concentración de cHDL, los fibratos principalmente, no han demostrado de forma clara el beneficio de dicho incremento²⁵. En el VAHIT (Veterans Affairs High density lipoprotein cholesterol Intervention Trial), el estudio más importante publicado hasta la actualidad en pacientes con cHDL bajo, se aleatorizó a 2.531 varones con cardiopatía isquémica y concentraciones bajas de cHDL y normales de cLDL a recibir durante 5 años gemfibrozilo o placebo²⁶. El número de nuevos episodios cardiovasculares se redujo un 24% en el grupo de tratamiento activo, pero el beneficio clínico no se asoció de forma importante con las modificaciones lipídicas²⁷, y se limitó de forma casi exclusiva a los pacientes con diabetes tipo 2 o manifestaciones de resistencia periférica a la insulina²⁸, resultados consistentes con los de otros estudios²⁵. Por este motivo, el tratamiento farmacológico con fibratos del cHDL parece indicado en los sujetos con elevado riesgo cardiovascular asociado con diabetes o síndrome metabólico y con cifras de cLDL normales o

por debajo de 130 mg/dl. Un ensayo muy importante con fenofibrato en pacientes con diabetes, el estudio FIELD, en fase de análisis de resultados, probablemente aclarará de forma definitiva esta indicación.

Recientemente se han comunicado elevaciones muy importantes del cHDL asociadas con el uso de torcetrapib²⁹, un inhibidor de la enzima CETP (proteína transferidora de ésteres de colesterol). Este fármaco podría ser muy útil en el tratamiento del cHDL en el futuro; sin embargo, habrá que esperar a los diferentes estudios clínicos en curso antes de saber si el aumento de las concentraciones del cHDL por este mecanismo es beneficioso para nuestros pacientes.

En resumen, la hipoalfalipoproteinemia, o cHDL bajo, es una dislipemia frecuente, de etiología muy variada, pero en nuestro medio suele asociarse con la obesidad abdominal. En dicha situación es un excelente marcador tanto del síndrome metabólico como de riesgo cardiovascular. Su tratamiento fundamental es el ejercicio físico y la pérdida de peso, e intentar mantener una concentración de cLDL normal. En algunos sujetos con riesgo alto y diabetes pueden estar indicados los fibratos.

Bibliografía

1. Kane JP, Havel RJ. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 2717-52.
2. Di Leo E, Lancellotti S, Penacchioni JY, Cefalu AB, Averna M, Pisciotto L, et al. Mutations in MTP gene in abeta- and hypobeta-lipoproteinemia. *Atherosclerosis*. 2005;180:311-8.
3. Hussain MM, Iqbal J, Anwar K, Rava P, Dai K. Microsomal triglyceride transfer protein: a multifunctional protein. *Front Biosci*. 2003;8:500-6.
4. Jayaram S, Soman A, Tarvade S, Londhe V. Cerebellar ataxia due to isolated vitamin E deficiency. *Indian J Med Sci*. 2005;59:20-3.
5. Li CM, Presley JB, Zhang X, Dashti N, Chung BH, Medeiros NE, et al. Retina expresses microsomal triglyceride transfer protein: implications for age-related maculopathy. *J Lipid Res*. 2005;46:628-40.
6. Burr ML, Bates CJ, Fehily M, St Leger AS. Plasma cholesterol and blood pressure in vegetarians. *J Hum Nutr*. 1981;35:437-41.
7. Schonfeld G. Familial hypobetalipoproteinemia: a review. *J Lipid Res*. 2003;44:878-83.
8. Davidson NO, Shelness GS. Apolipoprotein B: mRNA editing, lipoprotein assembly, and presecretory degradation. *Annu Rev Nutr*. 2000;20:169-93.
9. Fouchier SW, Sankatsing RJ, Peter J, Castillo S, Poci M, Alonso R, et al. High frequency of apo B gene mutations causing familial hypobetalipoproteinemia in patients from Dutch and Spanish descent. *J Med Genet*. En prensa 2005.
10. Cohen J, Persemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent mutations in PCSK9. *Nature Genet*. 2005;37:161-5.

11. Schonfeld G, Patterson BW, Yablonskiy DA, Tanoli TSK, Averna N, Elias N, et al. Fatty liver in familial hypobetalipoproteinemia: triglyceride assembly into VLDL particles is affected by the extent of hepatic steatosis. *J Lipid Res.* 2003;44:470-8.
12. Civeira F, Gonzalvo C. Tratamiento del colesterol HDL bajo. *Clin Invest Arterioscler.* 2000;12:209-11.
13. National Cholesterol Education Program. Adult Treatment Panel III Report. 2001. Disponible en: www.nhlbi.nih.gov
14. Serfaty-Lacrosniere C, Civeira F, Lanzberg A, Isaia P, Berg J, Janus ED, et al. Homozygous Tangier disease and cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 1994;107:85-98.
15. Brooks-Wilson A, Marzil M, Clee SM, Zhang LH, Romp K, van Dam M, et al. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nature Genet.* 1999;22:236-45.
16. Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amoura Z, Piette JC, et al. Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nature Genet.* 1999;22:352-5.
17. Franceschini G, Sirtori CR, Capurso A, Weisgraber KH, Mahley RW. A-I (Milano) apoprotein: decreased high density lipoprotein cholesterol levels, with significant lipoproteins modifications and without clinical atherosclerosis in an Italian family. *J Clin Invest.* 1980;66:892-900.
18. Recalde D, Velez-Carrasco W, Civeira F, Cenarro A, Gomez-Coronado D, Ordoñas JM, et al. Enhanced fractional catabolic rate of apo A-I and apo A-II in heterozygous subjects for apo A-I Zaragoza (L144R). *Atherosclerosis.* 2001;154:613-23.
19. Pocić M, Cenarro A, Civeira F, Torralba MA, Perez-Calvo JI, Mozas P, et al. Beta-glucocerebrosidase gene locus as a link for Gaucher's disease and familial hipoalfalipoproteinemia. *Lancet.* 1998;351:1919-23.
20. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005;365:1415-28.
21. Gordon T, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation.* 1989;79:8-15.
22. Bustamante E. HDL bajo y riesgo cardiovascular. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza, 2005.
23. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004;95:764-72.
24. Tall AR, Costet P, Wang N. Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux. *J Clin Invest.* 2002;110:899-904.
25. Ascaso JF, Fernández-Cruz A, González-Santos P, Hernández Mijares A, Mangas Rojas A, Millán J, et al. Importancia del colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) en la prevención del riesgo cardiovascular. Recomendaciones del Foro HDL. *Clin Invest Arterioscler.* 2004;16:262-80.
26. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.* 1999;341:410-8.
27. Robins SJ, Collins D, Wittes JT, Papademetriou V, Deedwania PC, Schaefer EJ, et al; VA-HIT Study Group. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. Relation of gemfibrozil treatment and lipid levels with major coronary events: VA-HIT: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;285:1585-91.
28. Robins SJ, Rubins HB, Faas FH, Schaefer EJ, Elam MB, Anderson JW, et al; Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). Insulin resistance and cardiovascular events with low HDL cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). *Diabetes Care.* 2003;26:1513-7.
29. Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, et al. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med.* 2004;350:1505-15.

Ultrasonography for the evaluation of visceral fat and the metabolic syndrome

Erardo Meriño-Ibarra^{a,*}, Marta Artieda^a, Ana Cenarro^a, Jesús Goicoechea^b, Luisa Calvo^c,
Ana Guallar^d, Fernando Civeira^{a,e}

^aLaboratorio de Investigación Molecular, Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, Spain

^bDepartment of Prevención Riesgos Laborales, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, Spain

^cDepartment of Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, Spain

^dDepartment of Medicina Nuclear, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, Spain

^eDepartment of Medicina Interna, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, Spain

Received 9 October 2004; accepted 26 April 2005

Abstract

Association between abdominal obesity and cardiovascular disease has been related with visceral adiposity, through the predisposition of developing type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome (MS). Sonography is a simple and reliable method to measure both subcutaneous and visceral fat. To analyze the relationship of anthropometric measurements with abdominal adiposity measured by sonography and to analyze the utility of sonography in the prediction of insulin resistance (IR) and the other components of MS. Visceral fat measurements by sonography correlated better with components of MS than did subcutaneous fat measurements. Preperitoneal circumference (PC) was strongly correlated with all components of MS and with IR expressed as a homeostasis model assessment (HOMA) index for IR. PC was better than waist circumference (WC) in predicting triglyceride levels, apolipoprotein B levels, and HOMA index, but WC was better than PC in predicting high-density lipoprotein cholesterol levels. The area under the receiver operating characteristic curve was 0.699 for PC and 0.684 for WC, in subjects with body mass index 25 kg/m^2 or greater ($P = .024$ and $.015$, respectively). PC and WC showed good correlation with HOMA index (Spearman correlation coefficient = 0.306, $P < .001$ and $.206$, $P < .001$, respectively). Abdominal visceral fat is better correlated with MS than subcutaneous fat; sonography is a useful method to evaluate the abdominal fat; PC is the best sonography parameter correlated with components of MS, and in overweight and obese subjects, PC is better than WC at predicting components of the MS.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Obesity, especially of abdominal distribution, is an international health problem that has been on the increase, especially in occidental countries, in recent years [1,2]. It has been clearly established that abdominal obesity is strongly associated with cardiovascular disease (CVD). The association between abdominal obesity and CVD has been related with visceral adiposity, through the predisposition of developing type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome (MS) [3,4]. The mechanism of this association

has not been clearly established. However, adipose tissue with abdominal visceral distribution is very active in the production of several molecules such as tumor necrosis factor, resistin, plasminogen activator inhibitor 1, and interleukin 6, with potent proatherogenic and insulin resistance (IR) activities [5].

Along these lines, abdominal visceral adiposity measured by computed tomography scan or magnetic resonance imaging is well correlated with IR [6,7]. However, these procedures are, for the moment, reserved for research purposes.

The measurement of abdominal obesity through waist circumference (WC) has been established as a simple, inexpensive, and useful method for the diagnosis of abdominal obesity. For this reason, WC has been proposed

* Corresponding author. Tel.: +34 976 765500x3481; fax: +1 34 976 566569.

E-mail address: emerino@unizar.es (E. Meriño-Ibarra).

as a key element for the diagnosis of MS. It has been proposed as a part of the routine general physical examination in clinical practice [8]. Moreover, WC is well correlated with visceral obesity, and in clinical studies, it has been associated with cardiovascular risk [9]. However, IR among subjects with elevated WC is highly variable, probably for a number of reasons, including genetic factors predisposing to IR and the lack of accuracy in the measurement of WC in subjects with a pendulous abdomen [10]. In addition, WC is highly correlated with both subcutaneous and visceral abdominal fat, the latter being much more closely related to IR than the former [11].

Sonography is a simple and reliable method for measuring both subcutaneous and visceral fat having been demonstrated to show a strong correlation with both adiposities measured with computed tomography scan [12]. The clinical use of abdominal sonography in the prediction of IR has not been previously compared with WC.

The purpose of this study was to analyze the relationship of anthropometric measurements, including WC, with abdominal adiposity measured by sonography, and to assess the value of sonography in the prediction of IR and other components of the MS.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

We studied 177 volunteers, 68 men and 109 women, who underwent a routine medical examination. Exclusion criteria were age younger than 25 or older than 65 years, previous abdominal surgery, excessive alcohol consumption, current acute illness, and current use of drugs that modify lipid or glucose metabolism, including antidiabetic, antihypertensive, and hypolipidemic drugs, and estrogen replacement therapy. All subjects gave written informed consent. The local research committee approved the study.

Anthropometric measurements included age, sex, weight, height, body mass index (BMI), and WC. All measurements were made while the subjects were wearing a hospital gown with minimal underwear and no shoes. The weight was measured to the nearest 0.1 kg with a calibrated physician's office scale, and the height was measured to the nearest 1 mm with a wall-mounted stadiometer. Waist circumference was measured with a heavy-duty inelastic plastic fiber tape measure (Gulick II, Country Technology, Inc, Gays Mills, Wis) placed directly on the skin while the subject stood balanced on both feet, with the feet touching each other and both arms hanging freely. The measurement was taken immediately above the iliac crest and at end expiration [13]. Before taking a reading, specific attention was given to placing the tape perpendicular to the long axis of the body and horizontal to the floor. Blood pressure (OMRON M4-I, OMRON Matsusaka Co, Ltd, Matsusaka, Japan) was measured as recommended by the seventh report of the Joint National

Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure [14].

2.1.1. Biochemical measurements

Samples were obtained after at least 10 hours' fasting between 8 and 9 AM. Plasma glucose was determined by the glucose-oxidase method. Cholesterol content of lipoprotein fractions, serum triglycerides (TG), and uric acid were measured enzymatically. Apolipoprotein A-I (apo A-I), apolipoprotein B (apo B), and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were measured by immunonephelometry. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was calculated with the Friedewald formula. Insulin was measured with a commercial radioimmunoassay kit (Linco Research Inc, St Charles, Mo). As an indicator of IR, a homeostasis model assessment (HOMA) index for IR was used [15], which was calculated as follows:

$$\text{HOMA index} = \frac{[\text{fasting plasma glucose (mmol/L)} \times \text{fasting serum insulin } (\mu\text{U/mL})]}{22.5}$$

Sonography measurements were performed using a linear-array probe (Aloka SSD-900, Tokyo, Japan) (7.5 MHz and 42 mm) in supine position. It was kept perpendicular to the skin on the upper median abdomen, and longitudinal scan was done in the midpoint between the xiphoid appendix and the navel along the alba line with regard to the surface of the liver, to be almost parallel to the skin. Subcutaneous fat thickness (STh) and area (SA) were measured on the xiphumbilical line in both longitudinal and transverse views. Measurements were taken 3 times directly from the screen using the electronic calipers at the inner edge of the skin and at the outer edge of the alba line and the fat-muscle interfaces for area. Preperitoneal fat thickness or visceral-fat thickness (VTh) and area (VA) were measured in the same sites and views (Fig. 1). In this case, measurements were taken at the inner edge of the alba line and at the peritoneal line for thickness and area. Then mean values were calculated. Preperitoneal circumference (PC) was calculated as $\text{WC} - (2\pi \times \text{STh})$. This measurement assumes that WC is a circumference, hence after measuring WC and STh, the intra-abdominal radius and PC can be easily calculated with the formula cited previously. All the subjects were asked to hold their breath during the examination. Special care was taken to keep the probe just touching the skin to prevent compression of the fat layers. All measurements were performed by the same physician.

2.2. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS software package (version 11.0). Mean values, SD, and ranges of the anthropometric, biochemical, and sonographic measurements were calculated. The Spearman correlation test was applied to assess the association of sonographic measures and the rest of studied variables.

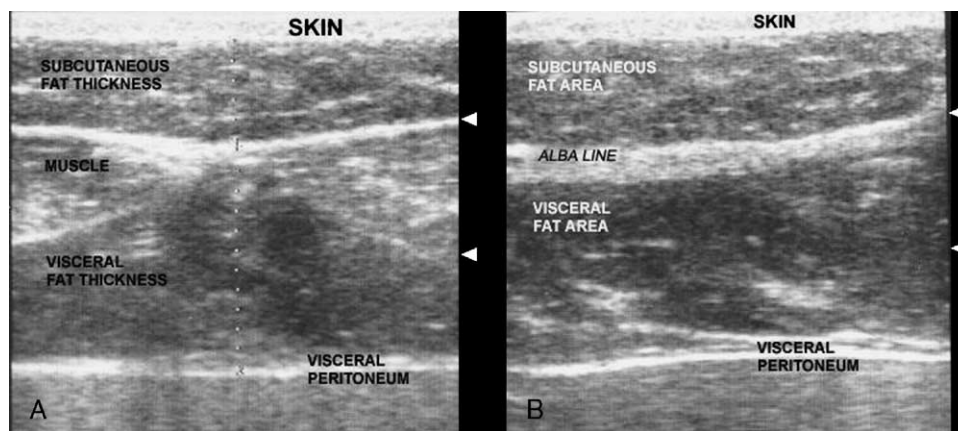


Fig. 1. Sonography scan of the upper abdominal wall on the xiphumbilical line, showing the subcutaneous fat and preperitoneal fat layers. A, Transverse view. B, Longitudinal view.

Other Spearman correlation was applied to assess the association of WC and PC and variables that express IR, such as fasting insulin levels, glucose/insulin ratio, McAuley method, Bennett index, quantitative insulin sensitivity check index, HOMA index, Raynaud index, and Hanson index [15–24]. *P* values of less than .05 were regarded as significant. Multivariate linear regression analysis was used to establish the independent contribution of sonography measurements to components of MS, and the same procedure was used to establish the independent contribution of WC or PC for prediction of components of MS in subjects with BMI 25 kg/m² or greater. Logarithmic transformation was used for variables with nonnormal distribution. Predictive model was assessed by the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve for HOMA values less than 3.2 as normal insulin

sensitivity [15], and values of *P* ≤ .05 were considered statistically significant.

3. Results

The main anthropometric and biochemical data of subjects included in this study are presented in Table 1. Mean BMI was 25.3 ± 3.45 kg/m² (range 18.5–39.4 kg/m²); 79 subjects (50 men and 29 women) had BMI greater than 25 kg/m², and obesity (BMI ≥ 30 kg/m²) was present in 13 subjects (7.3%). Eleven women (10%) were postmenopausal. The prevalence of the MS as defined by the Adult Treatment Panel III criteria [10] was 13.6% (18 men and 6 women). Most subjects presented normal glucose plasma levels, although 3 subjects had more than 125 mg/dL, with the highest value being 127 mg/dL. Significant differences

Table 1
Clinical characteristics of subjects studied

Variable	Men (n = 68), mean ± SD	Women (n = 109), mean ± SD	<i>P</i> values	All (n = 177), mean ± SD	All (n = 177), range
Age (y)	39 ± 10	43 ± 9	.009	42 ± 10	23–61
BMI (kg/m ²)	27.2 ± 3.7	24.0 ± 2.6	.000	25.3 ± 3.4	18.5–39.4
WC (cm)	95.2 ± 10.3	82.9 ± 9.0	.000	87.6 ± 11.2	58–118
SBP (mm Hg)	125 ± 11	119 ± 15	.002	121 ± 14	90–164
DBP (mm Hg)	79 ± 9	77 ± 9	.069	78 ± 9	58–100
Cholesterol (mg/dL)	214 ± 46	210 ± 36	.674	212 ± 40	121–335
TG (mg/dL)	113 ± 115	59 ± 22.77	.000	79.63 ± 76.57	27–381
HDL-C (mg/dL)	48 ± 12	62 ± 13.63	.000	57.45 ± 14.73	27–100
LDL-C (mg/dL)	143 ± 43	135 ± 32.78	.175	138.49 ± 36.76	51–269
Apo A-I (mg/dL)	124 ± 20	136 ± 18	.000	132 ± 20	74–192
Apo B (mg/dL)	102 ± 32	88 ± 20	.008	94 ± 26	43–203
Glucose (mg/dL)	99 ± 14	97 ± 7	.377	98 ± 11	27–127
Insulin (μU/mL)	18.2 ± 7.1	15.1 ± 5.5	.002	16.2 ± 6.3	2.6–45.4
HOMA index	4.5 ± 2.2	3.7 ± 1.5	.007	4.0 ± 2.0	0.6–13
hs-CRP (mg/L)	2.4 ± 3.8	1.3 ± 1.6	.101	1.7 ± 2.7	0.0–21
STh (cm)	1.1 ± 1.4	1.2 ± 0.4	.000	1.2 ± 0.9	0.1–11.7
VTh (cm)	1.5 ± 0.5	0.9 ± 0.39	.000	1.1 ± 0.5	0.3–2.3
SA (cm ²)	9.5 ± 1.3	9.9 ± 0.91	.002	9.8 ± 1.1	2–12.4
VA (cm ²)	10.5 ± 1.4	9.6 ± 0.9	.000	9.9 ± 1.2	2.3–12.5
PC (cm)	88.0 ± 11.1	75.0 ± 7.9	.000	80.0 ± 11.2	35.5–113.2

Table 2

Spearman correlation between sonographic variables and age and anthropometric and biochemical variables

Variable	STh	SA	VTh	VA	PC
Age	0.113	0.142	-0.004	-0.036	0.19
Weight	0.096	0.119	0.684*	0.665*	0.791*
BMI	0.313*	0.342*	0.669*	0.675*	0.736*
WC	0.287*	0.333*	0.794*	0.768*	0.933*
SBP	0.108	0.155	0.381*	0.332*	0.351*
DBP	0.040	0.077	0.247*	0.235**	0.208***
Cholesterol	-0.104	-0.094	-0.037	-0.028	0.018
TG	-0.040	0.017	0.469*	0.435*	0.517*
HDL-C	-0.076	-0.105	-0.589*	-0.553*	-0.595*
LDL-C	-0.046	-0.032	0.093	0.090	0.141
Apo A-I	-0.143	-0.131	-0.448*	-0.425*	-0.447*
Apo B	-0.100	-0.089	0.251**	0.243**	0.277*
Glucose	0.085	0.116	0.343*	0.290*	0.327*
Insulin	0.096	0.158	0.390*	0.390*	0.400*
HOMA index	0.1050	0.165***	0.430*	0.411*	0.427*
hs-CRP	0.216**	0.217**	0.401*	0.357*	0.264*

Values express correlation coefficient.

* $P \leq .001$.** $P \leq .01$.*** $P \leq .05$.

between men and women were found in the following variables: age, BMI, WC, systolic blood pressure (SBP), TG, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), apo A-I, apo B, insulin, HOMA index, STh, VTh, SA, VA, and PC (Table 1).

Table 2 shows the correlation of sonography measurements with age and anthropometric and biochemical variables. Subcutaneous fat measurements by sonography were correlated with BMI, WC, and hs-CRP, and visceral fat measurements were correlated with weight, BMI, WC, SBP, diastolic blood pressure (DBP), TG, HDL-C, apo A-I, apo B, glucose, insulin, hs-CRP levels, and HOMA index. PC was strongly correlated with all components of MS and with IR expressed as the HOMA index. WC was correlated with subcutaneous and visceral fat and with all components of MS (data not shown). hs-CRP was correlated with subcutaneous and visceral fat and with BMI (data not shown). The menopausal status did not significantly modify any correlation observed. Finally, Table 3 shows that both

Table 3

Spearman correlation between WCs and PCs and variables that express IR

Variable (reference)	Waist circumference	PC
Fasting insulin levels [16]	0.401*	0.400*
Glucose/insulin ratio [17]	-0.320*	-0.323*
McAuley method [18]	-0.401*	-0.475*
Bennett index [19]	-0.268**	-0.303**
QUICKI index [15,20]	-0.268**	-0.306**
HOMA index [15,21,22]	0.268**	0.306**
Raynaud index [23]	-0.401*	-0.400*
Hanson index [24]	-0.265*	-0.270*

Values express correlation coefficient. QUICKI index indicates quantitative insulin sensitivity check index.

* $P \leq .001$.** $P \leq .05$.

Table 4

Multilinear regression to assess the contribution of WC and PC to the components of the metabolic syndrome in subjects with BMI 25 kg/m² or greater

MS components	WC			PC		
	β	SE β	P	β	SE β	P
SBP	0.209	0.227	.362	-0.108	0.183	.559
DBP	-3.07×10^{-2}	0.154	.842	-2.17×10^{-2}	0.124	.861
TG	-9.08×10^{-3}	0.008	.254	2.235×10^{-2}	0.008	.005
HDL-C	-0.655	0.178	.000	-0.101	0.147	.492
LDL-C	-1.479	1.560	.346	1.850	1.534	.230
Apo B	1.130×10^{-3}	0.002	.606	2.962×10^{-3}	0.010	.028
HOMA index	2.843×10^{-3}	0.003	.340	5.297×10^{-3}	0.002	.005

circumferences (WC and PC) correlated with the different variables that express IR.

3.1. Predictors of IR

To establish whether sonography measurements (STh, VTh, SA, VA, and PC) were good predictors of the major components of MS (SBP, DBP, TG, HDL-C, LDL-C, apo B, and HOMA index), a multilinear regression analysis was performed in subjects with BMI 25 kg/m² or greater. PC was the best predictor of all the measurements and related calculations. To determine whether PC was the best predictor of the major components of MS (SBP, DBP, TG, HDL-C, LDL-C, apo B, and HOMA index), a multilinear regression analysis was performed in the same subjects with WC and PC as independent variables (Table 4). PC was better than WC in predicting TG levels, apo B levels, and HOMA index. WC was better than PC in predicting HDL-C levels. PC significantly improved the prediction of the HOMA index even after inclusion of WC in the model. Regression analysis was not significant for SBP, DBP, or

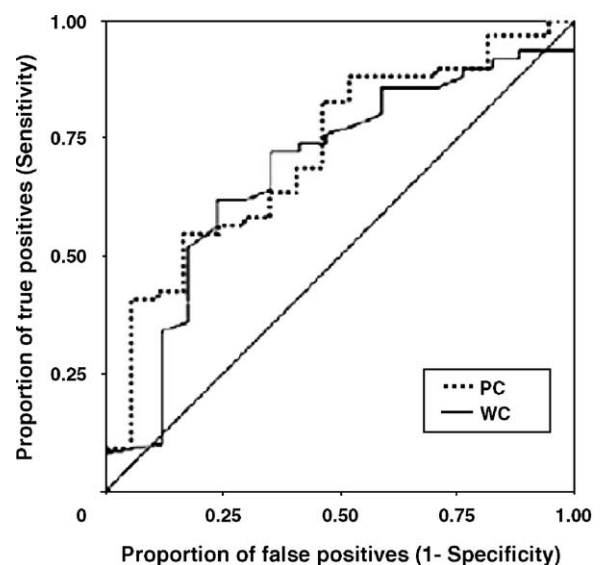


Fig. 2. ROC curves in subjects with BMI 25 kg/m² or greater for PC and for WC; areas under the curves were 0.699 ($P = .024$) and 0.684 ($P = .015$), respectively.

LDL-C levels (Table 4). The calculated area under the ROC curve was 0.699 for PC and 0.684 for WC, considering HOMA values less than 3.2 as normal insulin sensitivity [15] in subjects with BMI 25 kg/m² or greater (asymptotic significance, $P = .024$ and $.015$, respectively) (Fig. 2).

4. Discussion

IR is a complex metabolic disturbance in which many factors are involved [25]. In this study, we have confirmed that abdominal fat is a major determinant of IR, and abdominal sonography is an easy and reliable method to assess abdominal fat, as has been previously reported [26–28]. In addition, our study demonstrates for the first time that a simple, widely available, and inexpensive technique, such as sonography, correlated better with IR and other obesity-related metabolic disturbances than WC measurement.

Our results show that factors associated with IR and MS, that is, hyperglycemia, hypertriglyceridemia, hypertension, and low HDL-C, are strongly linked with visceral fat and only marginally with subcutaneous adiposity evaluated by sonography. This has recently been observed in diabetic patients in whom visceral fat measured by sonography also correlated with the risk of CVD [29]. In agreement with our results, it has been recently shown that abdominal liposuction of large volumes of subcutaneous adipose tissue does not significantly improve the metabolic abnormalities associated with obesity [30]. In our study, we found a high correlation between the amount of preperitoneal fat and the components of the MS, suggesting a common etiopathogenic link among them.

An interesting finding of our study is the relationship among hs-CRP with BMI and both subcutaneous and visceral fat, supporting the observation that hs-CRP blood levels are well correlated with general adiposity, in agreement with previous results [31].

Noting that WC is actually expressing subcutaneous and visceral fat, and that only visceral fat is related with MS, 1 of our objectives was to investigate whether sonographic measurement of visceral fat would improve the prediction of IR and MS from WC. In spite of our sample being made up of volunteers, most with normal weight and normal abdominal fat, our results show that sonographic measurements are better predictors than WC for the HOMA index, TG, and apo B levels, especially in obese or overweight subjects, for whom the prediction is more important. These results suggest that sonography would be very useful in obese subjects who present larger variations of the distribution of the subcutaneous and visceral fat depositions than do lean individuals.

The best sonographic parameter associated with IR, expressed as HOMA index and the components of the MS, was PC; in this context, we have also shown that in subjects with BMI 25 kg/m² or greater, PC had greater area under the ROC curve than WC with respect to HOMA values (<3.2 or ≥3.2) (Fig. 2). Thus, this indirect evaluation of

visceral fat excluding subcutaneous fat is even better than the direct visceral measurements themselves. This is probably caused by the heterogeneous distribution of intra-abdominal visceral fat, and most likely, only the measurement of the whole amount of intra-abdominal fat by multislice magnetic resonance imaging could improve the PC [32].

In conclusion, abdominal visceral fat correlated better with the components of the MS than subcutaneous fat. Sonography is a useful method for evaluating abdominal fat. PC is the best sonographic parameter correlated with components of the MS. In overweight and obese subjects, PC is better than WC in predicting components of the MS.

Acknowledgment

This research was supported by Fondo de Investigación Sanitaria PI031106, C03/181, and G03/01. Dr Meriño-Ibarra has a postdoctoral fellowship from Fundación Carolina.

References

- [1] Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, et al. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2001;286:1195–200.
- [2] Haffner S, Taegtmeier H. Epidemic obesity and the metabolic syndrome. *Circulation* 2003;108:1541–5.
- [3] Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, et al. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983;67:968–77.
- [4] Grundy SM, Hansen B, Smith Jr SC, et al. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Diabetes Association 2004 Clinical Management of Metabolic Syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 2004;109:551–6.
- [5] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548–56.
- [6] Ribeiro-Filho FF, Faria A, Kohlmann NEB, et al. Two-hour insulin determination improves the ability of abdominal fat measurement to identify risk for the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2003;26:1725–30.
- [7] Gastaldelli A, Miyazaki Y, Pettiti M, et al. Metabolic effects of visceral fat accumulation in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5098–103.
- [8] Wang J. Waist circumference: a simple, inexpensive, and reliable tool that should be included as part of physical examinations in the doctor's office. *Am J Clin Nutr* 2003;78:902–3.
- [9] Zhu SK, Wang ZM, Heshka S, et al. Waist circumference and obesity-associated risk factors among whites in the third National Health and Nutrition Examination Survey: clinical action thresholds. *Am J Clin Nutr* 2002;76:743–9.
- [10] Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, et al. Definition of metabolic syndrome report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433–8.
- [11] Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, et al. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. *Am J Clin Nutr* 2002;75:683–8.
- [12] Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Colman Jr O, et al. Ultrasonography for the evaluation of visceral fat and cardiovascular risk. *Hypertension* 2001;38(2):713–7.

- [13] Wang J, Thornton JC, Bari S, et al. Comparisons of waist circumferences measured at 4 sites. *Am J Clin Nutr* 2003;77:379-84.
- [14] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003;289(19):2560-72.
- [15] Skrha J, Haas T, Sindelka G, et al. Comparison of the insulin action parameters from hyperinsulinemic clamps with homeostasis model assessment and QUICKI indexes in subjects with different endocrine disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(1):135-41.
- [16] Laakso M. How good a marker is insulin level for insulin resistance? *Am J Epidemiol* 1993;137:959-65.
- [17] Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2694-8.
- [18] McAuley KA, Williams SM, Mann JI, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care* 2001;24:460-4.
- [19] Anderson RL, Hamman RF, Savage PJ, et al. Exploration of simple insulin sensitivity measures derived from the frequently sampled intravenous glucose tolerance (FSIGT) tests. *Am J Epidemiol* 1995;142:724-32.
- [20] Katz A, Sridhar SN, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2402-10.
- [21] Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, et al. Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes Care* 1999;22:818-22.
- [22] Cabezas-Cerrato J, Araújo D. Resistencia a la acción de la insulina. Evolución histórica del concepto. Técnicas para el estudio in vivo en humanos. *Endocrinol Nutr* 2003;50(10):396-406.
- [23] Raynaud E, Pérez-Martin A, Brun JF, et al. Revised concept for the estimation of insulin sensitivity from a single sample. *Diabetes Care* 1999;22:1003-4.
- [24] Hanson RL, Pratley RE, Bogardus C, et al. Evaluation of simple indices of insulin sensitivity and insulin secretion for use in epidemiological studies. *Am J Epidemiol* 2000;15:190-8.
- [25] Goldstein BJ. Insulin resistance: from benign to type 2 diabetes mellitus. *Rev Cardiovasc Med* 2003;4(Suppl 6):S3-S10.
- [26] Suzuki R, Watanabe S, Hirai Y, et al. Abdominal wall fat index, estimated by ultrasonography, for assessment of the ratio of visceral fat to subcutaneous fat in the abdomen. *Am J Med* 1993;95:309-14.
- [27] Sabir N, Sermez Y, Kazil S, et al. Correlation of abdominal fat accumulation and liver steatosis: importance of ultrasonographic and anthropometric measurements. *Eur J Ultrasound* 2001;14:121-8.
- [28] Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, et al. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res* 2003;11(12):1488-94.
- [29] Kim SK, Kim HJ, Hur KY, et al. Visceral fat thickness measured by ultrasonography can estimate not only visceral obesity but also risks of cardiovascular and metabolic diseases. *Am J Clin Nutr* 2004;79:593-9.
- [30] Klein S, Fontana L, Young VL, et al. Absence of an effect of liposuction on insulin action and risk factors for coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:2549-57.
- [31] Lambert M, Delvin EE, Paradis G, et al. C-reactive protein and features of the metabolic syndrome in a population-based sample of children and adolescents. *Clin Chem* 2004;50(10):1762-8.
- [32] Thomas EL, Bell JD. Influence of undersampling on magnetic resonance imaging measurements of intra-abdominal adipose tissue. *Int J Obes Metab Disord* 2003;27(2):211-8.

Screening of APOB Gene Mutations in Subjects with Clinical Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia

ERARDO MERIÑO-IBARRA,¹ SERGIO CASTILLO,¹ PILAR MOZAS,¹ ANA CENARRO,² ESPERANZA MARTORELL,³ JOSÉ LUIS DÍAZ,⁴ MANUEL SUÁREZ-TEMBRA,⁵ RODRIGO ALONSO,⁶ FERNANDO CIVEIRA,² PEDRO MATA,⁶ and MIGUEL POCOVÍ¹ ON BEHALF OF THE SPANISH GROUP OF FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA⁷

Abstract Monogenic hypercholesterolemia is a group of lipid disorders, most of which have autosomal dominant transmission. Familial defective apoB (FDB) resulting from mutations in the APOB gene is a well-recognized cause of autosomal dominant monogenic hypercholesterolemia (ADMH). However, the frequency of FDB among patients with ADMH is not well established. The aim of our research was to screen for mutations responsible for FDB in subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. We studied 408 patients from the Spanish Register of Familial Hypercholesterolemia, proportionally distributed among all Spanish regions. Abnormal SSCP patterns of the APOB gene were checked by DNA sequencing and restriction analysis. Three out of the 408 patients were carriers of the R3500Q mutation, and 2 subjects were carriers of the silent T3552T mutation; in both of these patients functional mutations in the LDL receptor gene were found. We conclude that FDB is not a common cause of ADMH in Spain; the R3500Q mutation is the only mutation in APOB causing FDB, and the LDL receptor binding domain of APOB is highly conserved in the studied sample.

Monogenic hypercholesterolemia is a heterogeneous group of genetic disorders characterized by high levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and an increased incidence of coronary heart disease (CHD) (Rader et al. 2003). However, two loci are responsible for most cases of autosomal dominant monogenic hypercholesterolemia (ADMH): the LDL receptor (LDLR) gene and the

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Plaza San Francisco s/n, 50009 Zaragoza, Spain.

²Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain.

³Hospital Son Llatzer, Palma de Mallorca, Spain.

⁴Hospital Abente y Lago, A Coruña, Spain.

⁵Hospital San Rafael, A Coruña, Spain.

⁶Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

⁷<http://www.colesterolfamiliar.com>

Human Biology, October 2005, v. 77, no. 5, pp. 653–663

Copyright © 2005 Wayne State University Press, Detroit, Michigan 48201-1309

KEY WORDS: FAMILIAL DEFECTIVE APOB, AUTOSOMAL DOMINANT MONOGENIC HYPERCHOLESTEROLEMIA (ADMH), HYPERCHOLESTEROLEMIA, APOB, LDLR, R3500Q MUTATION, T3552T MUTATION, SSCP (SINGLE-STRAND CONFORMATION POLYMORPHISM) ANALYSIS, SPAIN.

apolipoprotein B (APOB) gene. ADMH caused by mutations in the LDLR gene is called familial hypercholesterolemia (FH); when the cause is mutations in the APOB gene, the disorder is called familial defective apoB (FDB) (Kane and Havel 2001). In most cases the two entities usually have indistinguishable phenotypes (Defesche et al. 1993).

The most frequent mutation causing FDB is a replacement of arginine (R) by glutamine (Q) in residue 3500, the consequence of a G → A substitution at nucleotide 10708 (the R3500Q mutation) (Kane and Havel 2001). Prevalence of the R3500Q mutation in the general population varies depending on the geographic region. For example, the mutation has a frequency of 0.4% in Switzerland (Miserez et al. 1994) and 0.08% in Denmark (Tybjaerg-Hansen et al. 1998). In patients with CHD the prevalence reaches 0.53%, and in patients with hypercholesterolemia, 5.6% (Tybjaerg-Hansen et al. 1998). However, the frequency of other mutations in the APOB gene that cause hypercholesterolemia has not been well established. Furthermore, it has recently been suggested that other mutations in the APOB gene are even more frequent than the R3500Q mutation as a cause of ADMH (Soufi et al. 2004).

The aim of this study was to explore the APOB gene region that codes the APOB-100 domain interacting with LDLR in order to identify the existence of mutations in a representative sample of Spanish subjects with ADMH.

Materials and Methods

Subjects. We studied 408 patients from the national Spanish Registry of Familial Hypercholesterolemia with clinical diagnosis of FH according to the criteria of the MEDPED Program (Defesche 2000). We selected unrelated index cases that had not been previously studied; the patients are proportionally distributed according to sex and population from each of the 17 Spanish regions.

Clinical questionnaires, with data obtained from the clinical history and medical examination, and blood samples from each patient were sent to a central laboratory, as previously described (Castillo et al. 2002). Informed consent was obtained from all subjects, and the ethics committee, Comité Ético de Investigación Clínica de la Fundación Jiménez Díaz de Madrid, approved the research. Procedures were in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000.

DNA Extraction. Genomic DNA (gDNA) was extracted from 10 ml of peripheral blood using a commercial kit (Puregene DNA isolation kit, Gentra Systems, Minneapolis, Minnesota). The gDNA was diluted in TE × 1 (10 mmol/l Tris-HCl, 1 mmol/l EDTA, pH 8.0) to a final concentration of 100 ng/μl.

SSCP Analysis. A fragment of 342 base pairs (bp) from exon 26 of the APOB gene was amplified by PCR using the forward primer (FP) 5'-GGAGCAGTTGAC

CACAAGCTTAGC-3' and the reverse primer (RP) 5'-GGTGGCTTTGCTTGT ATGTTCTCC-3', both labeled with Cy5TM in the 5' position. The amplification reaction was performed in a 20 μ l volume, with 200 ng of gDNA, 1 \times buffer, 1.5 mM of MgCl₂, 200 μ M of dNTPs, 0.2 μ M of the forward and reverse primers, and 0.6 U of *Taq* DNA polymerase. The PCR was carried out using a Gene Amp 9700 PCR System (Perkin Elmer), with an initial denaturation step of 2 min at 96°C followed by 35 cycles of 20 s at 94°C and 30 s at 68°C, and a final extension step at 72°C for 5 min. PCR products were electrophoresed on 2% agarose gel with ethidium bromide staining.

One microliter of a 1:5 PCR product dilution was mixed with 2 μ l of denaturing buffer (deionized formamide, 0.5% dextran blue, 10 mM NaOH) for single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. For denaturation, samples were heated at 95°C for 5 min and immediately chilled on ice to avoid renaturation. Electrophoresis of denatured samples was carried out in 0.5 \times MDE_(FMC) gels under two different conditions: without glycerol at 20°C and with 5% glycerol at 25°C, in an ALF Express DNA sequencer (Amersham Pharmacia Biotech). Electrophoretic patterns were analyzed with Fragment Manager 1.00 software (Amersham Pharmacia Biotech).

DNA Sequencing. A fragment of 342 bp from exon 26 of the APOB gene was amplified using the same conditions as described for the SSCP analysis but with nonlabeled primers. PCR products were purified with the Wizard MagneSil PCR Clean-Up System kit (Promega) and then sequenced with the CEQ DTCS Quick Start kit (Beckman Coulter) for Dye Terminator Cycle Sequencing in a CEQ 8000 Genetic Analysis System sequencer (Beckman Coulter).

Restriction Analysis. To confirm the APOB R3500Q mutation, a fragment of 143 bp from exon 26 of the APOB gene including the coding sequence of amino acid 3500 of APOB was amplified by PCR using the following primers: FP3500, 5'-CTTACTTTTCCATTGAGTACTCTACC-3'; and RP3500, 5'-AGTGCCCTG CAGCTTCACTGAGTAC-3'. Each primer presented two mismatched bases (bold-faced) to introduce new recognition sites for the restriction enzyme *ScaI*, together with the mutant allele sequence in the 3' end and in the 5' end as a control of enzyme digestion. The thermal program for DNA amplification was 30 min at 96°C, followed by 30 cycles of 1 min at 94°C, 1 min at 55°C, 1 min at 72°C, and, finally, 5 min at 72°C. The PCR was performed in a 50 μ l volume, with 500 ng of gDNA, 1 \times buffer, 1.5 mM of MgCl₂, 200 μ M of dNTP, 0.6 μ M of the forward primer, 0.4 μ M of the reverse primer, and 1.5 U of *Taq* DNA polymerase (Invitrogen). After amplification, PCR products were digested with *ScaI* (Amersham Pharmacia Biotech). Digested fragments were separated by electrophoresis on a 3% agarose NuSieve gel (NuSieve GTG, Molecular Applications, Rockland, Maine) and visualized with ethidium bromide staining.

To check the APOB T3552T mutation, PCR products obtained with forward and reverse primers (as described for the SSCP analyses) were digested

with *HphI* (Amersham Pharmacia Biotech). After digestion the obtained fragments were separated by electrophoresis on a 3% agarose NuSieve gel (NuSieve GTG) and visualized with ethidium bromide staining.

APOB Gene Haplotyping. Genotypes for three polymorphic sites in the APOB gene were analyzed by digestion with *XbaI* (Boehringer Mannheim), *MspI* (Amersham Pharmacia Biotech), and *EcoRI* (Gibco BRL) restriction enzymes. The minisatellite-length polymorphism caused by the variable number of tandem repeats located at the 3' end of the APOB gene (3'-HVR) was genotyped as previously described (Boerwinkle et al. 1989; Ludwig et al. 1989; Rauh et al. 1991).

LDLR Gene Mutation Analysis. In all subjects with a mutation in the APOB gene, a full screening of the LDLR gene was conducted. LDLR point mutations and large rearrangements were analyzed using the SSCP and Southern blot techniques, respectively, as previously described (Mozas et al. 1999).

Statistical Analysis. Continuous variables were compared using a Student's *t* test, and categorical variables were compared using the chi-square test. The prevalence of the R3500Q mutation in the general population was calculated considering the R3500Q mutation frequency in the population with FH and the heterozygous prevalence of FH in the general population (1 in 500). The standard error of the estimated frequency was calculated with the equation

$$SE = \left(\frac{pq}{2n} \right)^{1/2}, \quad (1)$$

where *p* and *q* are the allele frequencies and *n* is the number of subjects studied. The 95% confidence interval (CI) of allele frequencies was *p* or *q* ± 1.96 × SE. All statistical analyses were performed with SPSS 11.0 for Windows.

Results

Clinical and lipid characteristics of the 408 studied subjects, arranged by sex, are shown in Table 1. Women were significantly older than men, and their HDL-C levels were higher, whereas their triglyceride levels were lower than those for men. Personal history of premature CHD was higher in men than in women.

After SSCP analysis of a region of the APOB gene that included the LDLR binding domain, three samples displayed an abnormal pattern, similar to that of the heterozygous control for the APOB R3500Q mutation. To confirm the presence of this mutation, we used a restriction analysis of PCR products with the *ScaI* enzyme. After digestion of 143 bp of PCR products, we obtained fragments

Table 1. Clinical and Lipid Characteristics of Studied Patients

Variable	Men (n = 198)	Women (n = 210)	Total (n = 408)
Age (years) ^a	45.8 ± 13.8	51.9 ± 16.4	48.7 ± 15.4
BMI (kg/m ²)	26.5 ± 4.0	26.0 ± 5.0	26.3 ± 4.5
Total cholesterol (mg/dl)	386 ± 73.2	393 ± 85.1	389 ± 79.1
Triglycerides (mg/dl) ^a	140 ± 81.6	120 ± 69.5	131 ± 76.9
HDL-C (mg/dl) ^a	50 ± 13.5	60 ± 15	55 ± 14.9
LDL-C (mg/dl)	303 ± 75.6	303 ± 71.5	304 ± 73.7
Personal history of premature coronary heart disease (%) ^a	25.2	9.8	17.9
Family history of premature coronary heart disease (%)	37.0	41.5	39.1
Tendon xanthomas (%)	25.6	19.7	22.8
Xanthelasma (%)	11.9	16.9	14.3
Arcus cornealis (%)	48.2	47.3	47.8
MEDPED diagnosis ^b			
Certain (%)	68.4	67.1	67.8
Probable (%)	31.6	32.8	32.2

Data are expressed as mean ± standard deviation.

a. Significant differences between groups according to sex ($p \leq 0.001$).

b. Clinical diagnosis criteria of FH according to the MEDPED Program (Defesche 2000).

of 18, 23, 102, and 125 bp in mutant samples carrying the APOB R3500Q mutation (Figure 1). Two different samples showed an abnormal SSCP pattern, different from normal and heterozygous R3500Q mutation patterns. To identify the cause of this anomalous electrophoretic migration, we sequenced both PCR products. Sequencing revealed a C → T substitution at nucleotide 10865, resulting in no amino acid change at the 3552 codon (mutation T3552T). This nucleotide substitution was confirmed by restriction analysis with *HphI*. After digestion of PCR products, we obtained fragments of 18, 26, 298, and 316 bp in mutant samples (normal samples had 18, 26, and 298 bp), because the C → T change destroys an existing restriction site (Figure 2).

In order to exclude the possibility that the hypercholesterolemia of studied patients was caused by mutations in the LDLR gene, we carried out a complete screening of this gene using SSCP and Southern blot analyses. No mutation was found in the LDLR gene in subjects carrying the R3500Q mutation. However, both patients who carry the T3552T mutation were carriers also of mutations in the LDLR gene: One of them was a carrier of the C74G mutation in exon 3, and the other patient was a carrier of the D147N mutation in exon 4 of the LDLR gene.

Therefore 5 out of 408 studied subjects were carriers of a mutation in the APOB gene; 3 of them were carriers of the R3500Q mutation and the other 2 subjects were carriers of the T3552T mutation and a mutation in the LDLR gene. When we compared the lipid levels of the APOB R3500Q mutation carriers, the

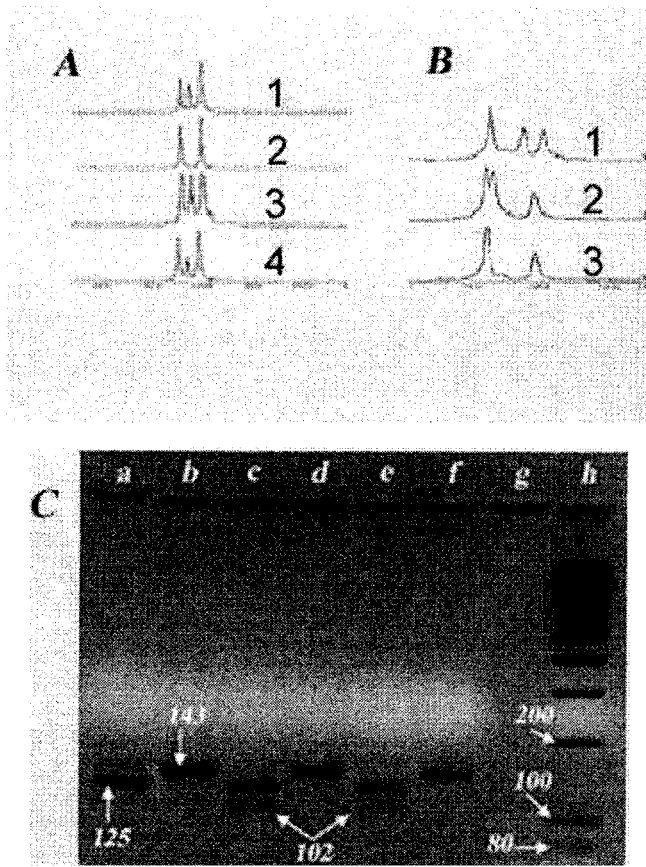


Figure 1. SSCP patterns (A) without glycerol and (B) with 5% glycerol. Lanes A1, A3, A4, and B1: heterozygous samples for the R3500Q mutation; lanes A2 and B3: wild-type sample; lane B2: sample with abnormal pattern. SSCP peaks appeared at 480:00 minutes and at 780:00 minutes for parts A and B, respectively. (C) Restriction enzyme analysis with *ScaI*. Lane a: normal digested sample; lane b: normal nondigested sample; lanes c and e: digested R3500Q mutation samples; lanes d and f: nondigested R3500Q mutation samples; lane g: nontemplate PCR; lane h: 100-bp ladder marker. Numbers indicate fragment lengths in base pairs.

double mutant carriers, and the APOB mutation noncarriers, we did not observe any significant statistical differences (Table 2).

Two patients carrying the R3500Q mutation were from northwestern Spain, and the third one was from northeastern Spain. Patients carrying the T3552T mutation were from different locations: One of them came from northeastern Spain, and the other one came from southern Spain.

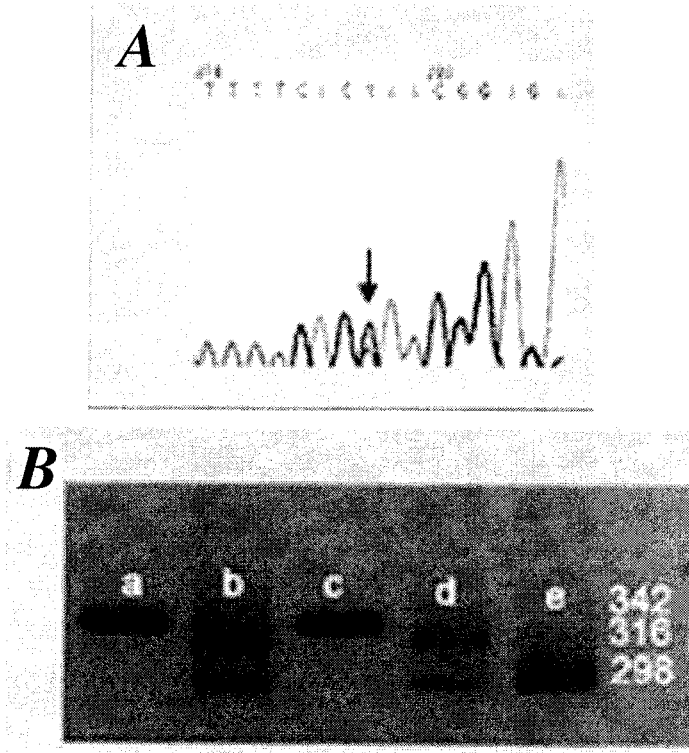


Figure 2. (A) Sequencing electropherogram of APOB gene showing heterozygous T3552T mutation (arrow). (B) Restriction enzyme analysis with *HphI* for T3552T mutation: lanes b and d: mutant digested samples; lanes a and c: mutant nondigested samples; lane e: wild-type digested sample. Numbers indicate fragment lengths in base pairs.

Table 2. Lipid Levels of Studied Patients by APOB Genotype

	<i>APOB</i> R3500Q Mutation Carriers	<i>APOB</i> T3552T and LDLR Mutation Carriers	<i>APOB</i> Mutation Noncarriers	<i>p</i> ^a
Number of subjects	3	2	403	NS
Total cholesterol (mg/dL)	396 ± 60.0	385 ± 34.6	389 ± 79.5	NS
Triglycerides (mg/dL)	115 ± 33.2	199 ± 140.7	131 ± 76.8	NS
HDL-C (mg/dL)	52 ± 2.1	54 ± 37.4	55 ± 14.8	NS
LDL-C (mg/dL)	345 ± 3.8	291 ± 43.9	303 ± 74.0	NS

Data are expressed as mean ± standard deviation.

a. NS, nonsignificant.

The haplotype of the APOB gene for patients carrying the R3500Q and T3552T mutations was analyzed for four polymorphic sites. The three subjects carrying the R3500Q mutation shared the haplotype *XbaI*−/*MspI*+/*EcoRI*−/*3'*-HVR48, and the two subjects carrying the T3552T mutation shared the haplotype *XbaI*+/*MspI*+/*EcoRI*+/*3'*-HVR48 (data not shown).

The prevalence of carriers of the R3500Q mutation in the studied group of subjects with hypercholesterolemia was 0.73%. If these data are extrapolated to the general population, the prevalence of carriers with the R3500Q mutation would be 1.4×10^{-5} (95% CI, 0–0.0042).

Discussion

In this study we investigated the presence of the mutations in the binding domain of the APOB gene causing FDB. To our knowledge, this is the first study evaluating the APOB gene's contribution to ADMH in a representative sample of subjects with ADMH coming from a large population with high genetic heterogeneity. The main findings of our study are (1) that the APOB gene region that codes the APOB binding domain is highly conserved, (2) that FDB is present in less than 1% of subjects with ADMH, and (3) that the R3500Q mutation is the only functional mutation responsible for FDB in this population. This is in contrast to the contribution of the LDLR gene, of which more than 200 mutations in the same population have been described. More than 80% of cases of ADMH are due to LDLR gene mutations.

Molecular diagnosis of FDB can be carried out by several molecular biology techniques: restriction enzyme digestion, heteroduplex analysis (Cenarro et al. 1999; Henderson et al. 1997), SSCP analysis, denaturing gradient gel electrophoresis, or direct sequencing of PCR products (Henderson et al. 1997). In this study we have improved the sensitivity of the SSCP technique by using two different electrophoresis conditions per sample: gels with and without glycerol and with different temperatures. Therefore the sensitivity obtained with this approach is near 100% (Ye and Henney 1999).

In this study we found three subjects carrying the R3500Q mutation in the APOB gene. This mutation was first described by Soria et al. (1989), and it has been associated with FDB in all published works, because its binding affinity to LDLR is diminished. Previous studies have hypothesized a Celtic origin for this mutation (Miserez and Muller 2000; Myant et al. 1997). Our results also support this hypothesis, because the haplotype analysis of the APOB gene in carriers of the R3500Q mutation identified in this study is identical with that reported for Caucasian populations (Ludwig and McCarthy 1990) and is also consistent with previously reported APOB haplotypes in heterozygous Spanish patients with FDB (Castillo et al. 2002). Two out of the three carriers of the R3500Q mutation were from northwestern Spain, a region where the Celtic invasion has been well

documented. This fact is indicative of the high prevalence of the R3500Q mutation in this Spanish region, in agreement with a previous report (Castillo et al. 2002). Real et al. (1999, 2001, 2003) reported R3500Q-carrying patients from eastern Spain, but they did not report the haplotypes of this mutation. Therefore we cannot rule out the possibility that they would share the same haplotype.

Two subjects with the T3552T mutation in the APOB gene have also been identified in this study. This mutation was previously reported by Pullinger et al. (1999). Although it is a silent mutation, because no amino acid change occurs, subjects carrying the T3552T mutation in Pullinger's report presented hypercholesterolemia. Pullinger and colleagues found that the binding affinity of LDL with APOB-T3552T to fibroblast was diminished (Pullinger et al. 1999). In our patients with the T3552T mutation in the APOB gene we also found a mutation in the LDLR gene, and therefore these patients' hypercholesterolemia is probably caused by defects in the LDLR gene. However, we cannot exclude the possibility that the presence of two mutations, one of them in the APOB gene and the other in the LDLR gene, might have an additive effect, because the mutant APOB gene with defective binding affinity should bind poorly to defective LDLR. Family cosegregation analysis and mutant protein studies will be necessary to elucidate the functional effect of this APOB gene mutation.

We have studied a long APOB gene fragment, and only two point mutations, R3500Q and T3552T, were found. We did not find nonsense mutations or frame-shift short insertions or deletions, probably because these classes of mutation usually generate truncated apoB proteins, which are associated with hypercholesterolemia (familial hypobetalipoproteinemia, OMIM 605019), and our selected patients are hypercholesterolemic. The fact that only two mutations have been identified in such a long fragment of the APOB gene points out the high degree of conservation of that region.

Patients with FDB and FH could have similar levels of plasma cholesterol (Defesche et al. 1993), although other studies suggest that patients with FDB in general are less severely hypercholesterolemic and may have a lower prevalence of cardiovascular disease (Garcia-Alvarez et al. 2003; Hansen et al. 1997). In our study we found no significant differences between groups (carriers and noncarriers of the APOB mutation) in either clinical characteristics or lipid levels. However, an estimation of the true prevalence of the R3500Q mutation should be done based on DNA samples from populations not selected on the basis of their lipid levels but randomly selected from the basic population of interest.

In conclusion, FDB has a low frequency in Spain and the R3500Q mutation is the only causative FDB mutation found in this sample. The genetic heterogeneity for the LDLR binding domain of APOB is low, as assessed by SSCP analysis.

Acknowledgments This research was supported by the Fundación Hipercolesterolemia Familiar, by the Fondo de Investigación Sanitaria through grants FIS C03/181, G03/01,

and PI031106, and by the Ministerio de Educación y Ciencia through grant SAF 2001-2466-C05. Erardo Meriño-Ibarra is a postdoctoral fellow of the Fundación Carolina.

Received 14 October 2004; revision received 9 August 2005.

Literature Cited

- Boerwinkle, E., W. J. Xiong, E. Fourest et al. 1989. Rapid typing of tandemly repeated hypervariable loci by the polymerase chain reaction: Application to the apolipoprotein B 3' hypervariable region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86(1):212–216.
- Castillo, S., D. Tejedor, P. Mozas et al. 2002. The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 165(1):127–135.
- Cenarro, A., F. Civeira, and M. Pocovi. 1999. Analysis of genetics variants in cardiovascular risk genes by heteroduplex analysis. In *Methods in Vascular Disease: Molecular Biology and Gene Therapy Protocols*, A. H. Baker, ed. Totowa, NJ: Humana Press, 13–23.
- Defesche, J. C. 2000. Familial hypercholesterolaemia. In *Lipids and Vascular Disease: Current Issues*, D. J. Betteridge, ed. London: Martin Dunitz, 65–77.
- Defesche, J. C., K. L. Pricker, M. R. Hayden et al. 1993. Familial defective apolipoprotein B-100 is clinically indistinguishable from familial hypercholesterolemia. *Arch. Intern. Med.* 153(20):2349–2356.
- Garcia-Alvarez, I., S. Castillo, P. Mozas et al. 2003. Differences in clinical presentation between subjects with a phenotype of familial hypercholesterolemia determined by defects in the LDL-receptor and defects in apoB-100. *Rev. Esp. Cardiol.* 56(8):769–774.
- Hansen, P. S., J. C. Defesche, J. J. Kastelein et al. 1997. Phenotypic variation in patients heterozygous for familial defective apolipoprotein B (FDB) in three European countries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17(4):741–747.
- Henderson, B. G., P. R. Wenham, J. P. Ashby et al. 1997. Detecting familial defective apolipoprotein B-100: Three molecular scanning methods compared. *Clin. Chem.* 43(9):1630–1634.
- Kane, J. P., and R. J. Havel. 2001. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly et al., eds. New York: McGraw-Hill, 2717–2752.
- Ludwig, E. H., W. Friedl, and B. J. McCarthy. 1989. High-resolution analysis of a hypervariable region in the human apolipoprotein B gene. *Am. J. Hum. Genet.* 45(3):458–464.
- Ludwig, E. H., and B. J. McCarthy. 1990. Haplotype analysis of the human apolipoprotein B mutation associated with familial defective apolipoprotein B100. *Am. J. Hum. Genet.* 47(4):712–720.
- Miserez, A. R., R. Laager, N. Chiodetti et al. 1994. High prevalence of familial defective apolipoprotein B-100 in Switzerland. *J. Lipid Res.* 35(4):574–583.
- Miserez, A. R., and P. Y. Muller. 2000. Familial defective apolipoprotein B-100: A mutation emerged in the Mesolithic ancestors of Celtic peoples? *Atherosclerosis* 148(2):433–436.
- Mozas, P., F. Civeira, S. Castillo et al. 1999. Mutaciones del gen del receptor LDL asociadas a hipercolesterolemia familiar en la Comunidad Autónoma de Aragón. *Clin. Invest. Arterioscler.* 11:180–188.
- Myant, N. B., S. A. Forbes, I. N. Day et al. 1997. Estimation of the age of the ancestral arginine 3500 → glutamine mutation in human apoB-100. *Genomics* 45(1):78–87.
- Pullinger, C. R., D. Gaffney, M. M. Gutierrez et al. 1999. The apolipoprotein B R3531C mutation: Characteristics of 24 subjects from 9 kindreds. *J. Lipid Res.* 40(2):318–327.
- Rader, D. J., J. Cohen, and H. H. Hobbs. 2003. Monogenic hypercholesterolemia: New insights in pathogenesis and treatment. *J. Clin. Invest.* 111(12):1795–1803.

APOB Gene Mutations and Hypercholesterolemia / 663

- Rauh, G., H. Schuster, J. Fischer et al. 1991. Familial defective apolipoprotein B-100: Haplotype analysis of the arginine(3500)–glutamine mutation. *Atherosclerosis* 88(2–3):219–226.
- Real, J. T., J. F. Chaves, J. F. Ascaso et al. 1999. Familial defect of apoB-100 in subjects with clinically diagnosed primary hypercholesterolemia: Identification of the first family with this disorder in Spain. *Med. Clin. (Barcelona)* 113(1):15–17.
- Real, J. T., J. F. Chaves, J. F. Ascaso et al. 2003. Additional information on apoB R3500Q mutation in Spain. *Atherosclerosis* 168(2):399–400.
- Real, J. T., J. F. Chaves, J. J. M. de Llano et al. 2001. Identificación y caracterización del primer español con defecto homocigoto familiar de unión a la apolipoproteína B. *Med. Clin. (Barcelona)* 116:138–141.
- Soria, L. F., E. H. Ludwig, H. R. Clarke et al. 1989. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86(2):587–591.
- Soufi, M., A. M. Sattler, W. Maerz et al. 2004. A new but frequent mutation of apoB-100–apoB His3543Tyr. *Atherosclerosis* 174(1):11–16.
- Tybjærg-Hansen, A., R. Steffensen, H. Meinertz et al. 1998. Association of mutations in the apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *New Engl. J. Med.* 338(22):1577–1584.
- Ye, S., and H. M. Henney. 1999. Detection of mutations and DNA polymorphisms in genes involved in cardiovascular disease by polymerase chain reaction: Single strand conformation polymorphism analysis. In *Vascular Disease: Molecular Biology and Gene Therapy Protocols*, A. H. Baker, ed. Totowa, NJ: Humana Press, 3–12.

Genetic variation in the hepatic lipase gene is associated with combined hyperlipidemia, plasma lipid concentrations, and lipid-lowering drug response

Ana Cenarro, PhD,^a Marta Artieda, BSc,^a Carmen Gonzalvo, MD, PhD,^a Erardo Meriño-Ibarra, MD,^a Rosa Arístegui, MD,^b Alberto Gañán, PhD,^c Cristina Díaz, MD,^b Josep María Sol, MD,^b Miguel Pocoví, PhD,^c and Fernando Civeira, MD, PhD,^a on behalf of the ATOMIX Study Group Zaragoza and Barcelona, Spain

Background Combined hyperlipidemia (CHL) is a very frequent dyslipidemia, being lipid-lowering drugs often necessary in its management. Some genetic loci have been associated with CHL, and modulation of lipid-lowering treatment by genetic polymorphisms has been reported. We have investigated whether common polymorphisms in the hepatic lipase gene (*LIPC*) influence the baseline lipid concentration and the response to atorvastatin or bezafibrate in patients with CHL.

Methods Two genetic polymorphisms in *LIPC* (−514C→T and +651A→G) were determined by polymerase chain reaction and restriction analysis in 118 subjects of the ATOMIX (Atorvastatin in Mixed dyslipidemia) study who were randomized to treatment with either atorvastatin or bezafibrate and in 114 normolipidemic controls.

Results The −514T allele frequency was higher in the ATOMIX group (0.297) than in the control group (0.193) ($P = .01$). The −514T allele carriers in the control group showed higher high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentrations than the −514C homozygotes, 50.8 ± 1.86 versus 45.9 ± 1.40 mg/dL ($P = .02$). The +651G carriers in the ATOMIX group showed lower total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol than the +651A homozygotes, 274 ± 3.72 and 181 ± 3.50 mg/dL versus 289 ± 4.0 and 194 ± 3.76 mg/dL, respectively ($P < .01$). Homozygotes for the −514C allele on bezafibrate treatment had greater decrease in triglycerides and greater increase in HDL-C than −514T allele carriers after 12 months of bezafibrate treatment, −39.4% and +35.8% versus −25.5% and +20.4%, respectively ($P = .080$ and $P = .007$, respectively).

Conclusions A higher frequency of the −514T allele of *LIPC* suggests a role of this locus in the pathogenesis of CHL. The −514T allele is associated with higher HDL-C concentration in normolipidemic population. The −514C→T polymorphism modulates the lipid-lowering response to bezafibrate, with a better effect in homozygous CC subjects. (Am Heart J 2005;150:1154-62.)

Mixed or combined hyperlipidemia (CHL) is a commonly found disorder of lipid metabolism characterized by an increased concentration of apolipoprotein B-containing particles in plasma.¹ Combined hyperlipidemia is usually produced by increased levels of very low-density lipoprotein and low-density lipoprotein

(LDL), which produce elevated plasma concentrations of total cholesterol (TC) and triglycerides (TGs).

Frequent causes of CHL in the population are type 2 diabetes,² metabolic syndrome,³ and familial combined hyperlipidemia (FCH).⁴ All of them are very common diseases associated with high risk of atherosclerosis disease, that, at least in part, is due to the associated dyslipidemia, which also includes low-plasma high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentration and dense LDL particles.⁵

Lipid-lowering drugs are often necessary in the management of CHL. Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors (statins) and fibrates are effective in the treatment of this disorder.⁶ Although no specific prevention trial has been designed for CHL, post hoc analyses in large lipid-lowering trials have shown uniform reduction in coronary artery disease (CAD) risk, especially in subjects with this phenotype.^{7,8}

From the ^aLaboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain, ^bDepartamento de I+D de Pfizer, Barcelona, Spain, and ^cDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, Spain.

Submitted March 4, 2004; accepted February 7, 2005.

Reprint requests: Fernando Civeira, MD, PhD, Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Avda. Isabel La Católica 1-3, 50009 Zaragoza, Spain.

E-mail: civeira@unizar.es

0002-8703/\$ - see front matter

© 2005, Mosby, Inc. All rights reserved.

doi:10.1016/j.ahj.2005.02.006

Table I. Baseline characteristics of CHL and normolipidemic control subjects of the study

Characteristic	ATOMIX (n = 118)	Control (n = 114)	P
Age (y)	52.6 ± 10.4	39.9 ± 9.42	<.001
BMI (kg/m ²)	27.5 ± 1.92	24.7 ± 3.93	<.001
Sex (male/female)	84/34	53/61	<.001
TC, mg/dL (mmol/L)	280 ± 28.0 (7.25 ± 0.73)	180 ± 22.5 (4.66 ± 0.58)	<.001
TGs, mg/dL (mmol/L)	277 ± 70.8 (3.13 ± 0.80)	75.8 ± 26.7 (0.86 ± 0.30)	<.001
LDL-C, mg/dL (mmol/L)	187 ± 23.8 (4.84 ± 0.62)	115 ± 25.0 (2.98 ± 0.65)	<.001
HDL-C, mg/dL (mmol/L)	39.2 ± 6.67 (1.02 ± 0.17)	50.3 ± 15.1 (1.30 ± 0.39)	<.001
Current smokers, n (%)	38 (32.2)	40 (37.0)	NS

Values are mean ± SD or count number. BMI, Body mass index; NS, nonsignificant.

Like many other drugs, the magnitude of clinical benefit and plasma lipid response to lipid-lowering drugs varies considerably among individuals⁹ partly because of genetic variability in different candidate genes related with lipid metabolism.

Hepatic lipase (HL) is a lipolytic enzyme that hydrolyzes TGs and phospholipids on plasma lipoproteins, leading to the conversion of buoyant HDL₂ to denser HDL₃ particles and of large, buoyant LDL to denser and more atherogenic LDL particles. Consequently, plasma HL activity has been found inversely related to HDL-C concentration and directly related to LDL and HDL densities. Hepatic lipase also has nonlipolytic functions, mediating the binding and uptake of lipoproteins via proteoglycans and receptor-mediated pathways.¹⁰ All these functions make HL as a key enzyme on HDL metabolism, reverse cholesterol transport, and density of LDL particles and a good candidate to explain phenotype in CHL.¹¹

Hepatic lipase activity varies among subjects because it is influenced by several factors, including genetic variation in HL gene (*LIPC*), sex, ethnic background, and intraabdominal fat.¹² Four common polymorphisms (−250G→A, −514C→T, −710T→C, and −763A→G) in complete linkage disequilibrium in the promoter region of *LIPC* gene have been recently described, producing a biallelic distribution (named here as −514C or T allele) that is responsible of approximately 30% of the HDL-C variation within the general population.¹² Besides, several polymorphisms in the coding region of the *LIPC* gene have been described.¹³ From these, an A to G substitution at nucleotide +651, which changes an asparagine at codon 193 to serine (N193S), and an A to C substitution at +1075, which changes a leucine at codon 334 to phenylalanine (L334F), have been associated with decreased postheparin plasma HL activity.¹⁴ These coding region polymorphisms are common in African Americans, but only N193S was frequently found in white population.¹⁵

Table II. Genotype and allelic frequencies of the studied polymorphisms in *LIPC* gene

Polymorphism	Group						P*
	ATOMIX (n = 118)			Control (n = 114)			
	Genotypes			Genotypes			
−514C→T	CC	CT	TT	CC	CT	TT	.010
n (%)	60 (50.8)	46 (39.0)	12 (10.2)	72 (63.2)	40 (35.1)	2 (1.75)	
T allele frequency	0.297			0.193			
+651A→G	AA	AG	GG	AA	AG	GG	NS
n (%)	52 (44.1)	56 (47.5)	10 (8.47)	52 (45.6)	50 (43.8)	12 (10.5)	
G allele frequency	0.32			0.32			

*χ² Test.

Recently, Zambon et al¹⁶ have reported, in a small but very well-characterized cohort of subjects with dyslipidemia and CAD, that patients carrying the major allele (−514C) in the promoter region of *LIPC* gene have better lipid-lowering effect and clinical response than patients with the −514T allele.

To better define the possible effects of these variations in *LIPC* gene on plasma lipid concentrations in CHL and to establish its influence on the lipid-lowering effect of statins and fibrates, the 2 most common drugs used in Europe to treat CHL, we have studied the −514C→T and N193S polymorphisms in subjects participating in the ATOMIX (Atorvastatin in Mixed dyslipidemia) study, a double-blind randomized multicenter trial designed to compare the effect of atorvastatin and bezafibrate in patients with CHL.

Subjects and methods

Subjects

The study subjects were 118 men and women of the ATOMIX study and 114 healthy normolipidemic volunteers. Male and female unrelated patients (aged 18-80 years) with CHL were recruited from referrals to 25 hospital clinics in Spain and in Portugal. The control group was composed of nonrelated Spanish volunteers from Zaragoza city, who were selected during an annual medical examination at their work place, because of normal lipid values and absence of drugs affecting lipid metabolism. Cases and controls were whites with the same genetic background (Iberia Peninsula). Main characteristics of the ATOMIX study have been already published,¹⁷ but in summary, it is a double-blind randomized multicenter trial, designed to compare the effect of atorvastatin, 10 to 40 mg/d, with that of the fibric acid derivative bezafibrate, 400 mg daily, on serum lipid and lipoprotein levels in patients with CHL treated for 12 months. Patients

Table III. Lipids and lipoprotein cholesterol according to *LIPC* genotypes and study group

-514C→T	ATOMIX			Control		
	CC (n = 60)	CT/TT (n = 58)	P	CC (n = 72)	CT/TT (n = 42)	P
TC	281 ± 4.07 (7.28 ± 0.11)	281 ± 3.85 (7.28 ± 0.10)	.985	181 ± 3.55 (4.69 ± 0.09)	177 ± 4.72 (4.58 ± 0.12)	.533
TGs	276 ± 8.61 (3.12 ± 0.10)	286 ± 8.13 (3.23 ± 0.09)	.355	84.6 ± 7.50 (0.96 ± 0.08)	85.9 ± 9.98 (0.97 ± 0.11)	.907
HDL-C	39.2 ± 1.60 (1.02 ± 0.04)	39.9 ± 1.52 (1.03 ± 0.03)	.731	45.9 ± 1.40 (1.19 ± 0.03)	50.8 ± 1.86 (1.31 ± 0.05)	.021
LDL-C	190 ± 3.77 (4.92 ± 0.10)	185 ± 3.56 (4.79 ± 0.09)	.354	118 ± 3.28 (3.06 ± 0.08)	110 ± 4.37 (2.85 ± 0.11)	.087

+651A→G	ATOMIX			Control		
	AA (n = 52)	AG/GG (n = 66)	P	AA (n = 52)	AG/GG (n = 62)	P
TC	289 ± 4.00 (7.48 ± 0.10)	274 ± 3.72 (7.10 ± 0.09)	.004	178 ± 4.25 (4.61 ± 0.11)	179 ± 3.55 (4.64 ± 0.09)	.951
TGs	285 ± 8.78 (3.22 ± 0.10)	277 ± 8.17 (3.13 ± 0.09)	.473	83.0 ± 9.32 (0.94 ± 0.10)	85.1 ± 7.79 (0.96 ± 0.08)	.846
HDL-C	40.2 ± 1.65 (1.04 ± 0.04)	38.9 ± 1.53 (1.00 ± 0.04)	.527	47.0 ± 1.75 (1.22 ± 0.05)	47.6 ± 1.46 (1.23 ± 0.03)	.803
LDL-C	194 ± 3.76 (5.02 ± 0.10)	181 ± 3.50 (4.69 ± 0.09)	.008	115 ± 3.99 (2.98 ± 0.10)	114 ± 3.34 (2.95 ± 0.08)	.906

Lipid and lipoprotein values are mean ± SE in mg/dL (mmol/L in parentheses) adjusted for sex, smoking, body mass index, and apolipoprotein E genotype.

Table IV. Variation of lipids and lipoprotein cholesterol after 12 months of treatment with atorvastatin or bezafibrate in the ATOMIX group according to *LIPC* genotypes*

-514C→T	Atorvastatin			Bezafibrate		
	CC (n = 27)	CT/TT (n = 30)	P	CC (n = 33)	CT/TT (n = 28)	P
TC	-27.7 ± 2.98	-29.9 ± 2.41	.567	-8.25 ± 2.25	-4.85 ± 2.28	.264
TGs	-13.2 ± 7.97	-25.8 ± 6.63	.226	-39.4 ± 6.04	-25.5 ± 6.07	.089
HDL-C	15.3 ± 5.54	12.6 ± 4.60	.701	35.8 ± 4.19	20.4 ± 4.24	.007
LDL-C	-36.4 ± 4.04	-35.6 ± 4.68	.879	-5.82 ± 3.05	-1.94 ± 3.08	.349

+651A→G	Atorvastatin			Bezafibrate		
	AA (n = 27)	AG/GG (n = 30)	P	AA (n = 25)	AG/GG (n = 36)	P
TC	-29.1 ± 2.83	-28.7 ± 2.84	.909	-6.74 ± 2.44	-6.17 ± 2.32	.861
TGs	-24.1 ± 7.33	-19.0 ± 7.39	.625	-36.7 ± 6.34	-31.8 ± 6.02	.557
HDL-C	9.59 ± 5.21	14.0 ± 5.26	.549	24.5 ± 4.55	30.1 ± 4.28	.350
LDL-C	-33.2 ± 3.73	-37.4 ± 3.675	.427	-2.17 ± 3.24	-4.40 ± 3.07	.603

*Mean change in percentage ± SE of final values (average of the last 2 measurements [weeks 50 and 52]) regarding the baseline values.

included in the study should have a baseline level of TGs 200 to 500 mg/dL and of LDL cholesterol (LDL-C) <250 and >190, 180, 160, or 135 mg/dL, depending on global risk status (low, moderate, high, or presence of coronary heart disease, respectively), according to European Atherosclerosis Society recommendations.¹⁸ After a 6-week dietary baseline phase, the patients were randomly assigned to receive either 10 mg atorvastatin or 400 mg bezafibrate (slow release) once daily. During the study, the dose of atorvastatin (or matching placebo) could be doubled according to the European Atherosclerosis Society LDL-C target guidelines (LDL-C <175, 155, 135, or 100 mg/dL for patients at low, moderate, high risk, or with coronary heart disease, respectively).¹⁸ If after 2 consecutive titrations LDL-C levels were still above target, open-label colestipol (3 sachets of 5 g/d) was recommended for the rest of the study.

The investigational review board of each institution approved the study. All patients gave written informed consent.

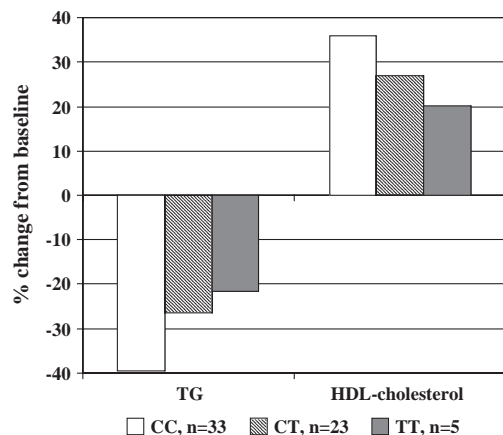
Laboratory determinations

After regular revisions at different times along the treatment, lipid and apolipoprotein quantifications were performed on samples from all patients to determine the lipoprotein profile according to methods described elsewhere.¹⁹ Cholesterol and TGs concentrations were determined, in whole serum and in each lipoprotein fraction isolated by ultracentrifugation, by an enzymatic colorimetric assay using an RA-XT autoanalyzer (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY).

DNA analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood cells using the method of Miller et al²⁰ *LIPC* genotypes were determined

Figure 1



Mean percentage change in TGs and HDL-C after 12 months of treatment with bezafibrate according to $-514C \rightarrow T$ *LIPC* promoter polymorphism.

by polymerase chain reaction amplification and restriction analysis. To assay the $-514C \rightarrow T$ polymorphism in the promoter of *LIPC* gene, a 254-base pair (bp) fragment was amplified using the primers 5'-CTAGGATCACCTCTCAATGGG-3' and 5'-CTGTGACAGCGCTGCAAGGG-3'. Amplified fragments were digested with *Hsp92II* restriction enzyme, and fragments of 85 and 169 bp were obtained when T was present instead of C at -514 position. To assay the $+651A \rightarrow G$ polymorphism in exon 5 of *LIPC* gene, a 294-bp fragment was amplified using the primers 5'-CCCGCGTAACCCTTACCC-3' and 5'-GCTCCCGGCCCATGACTT-3'. Amplified fragments were digested with *BseNI* restriction enzyme, and fragments of 194 and 100 bp were obtained when G was present instead of A at $+651$ position. Apolipoprotein E genotype was determined as previously described.²¹

Statistical analysis

A χ^2 analysis was performed to confirm that the studied polymorphisms were in Hardy-Weinberg (HW) equilibrium. Tests for HW equilibrium were carried out separately for cases and controls. The *P* value was calculated by comparing the value of the Pearson (χ^2) statistic test of the observed data with the distribution of the statistic test under the null hypothesis of HW equilibrium. Genotype and allele frequencies were compared by χ^2 analysis. Analysis of covariance was performed to compare the effects of *LIPC* gene polymorphisms and treatment (atorvastatin or bezafibrate) in terms of percentage change from baseline in all parameters measured. Baseline was the average of 3 measurements at weeks -4 , -2 , and 0, and final values were the average of the last 2 measurements (weeks 24 and 26 and weeks 50 and 52). The analysis of covariance models included the effects due to treatment, *LIPC* polymorphisms, sex, smoking status, body mass index, apolipoprotein E genotype, and baseline value. Statistical analyses were performed by using the SAS v.6.12 program (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

A modified intent-to-treat analysis was performed with data from patients who were randomized to treatment, met the preestablished diagnostic criteria for inclusion, were known to take at least 1 dose of the drugs tested, and provided any follow-up data for LDL-C. For those subjects who had no available data for the 52-week time point, data of the last double-blind observation were used for statistical analyses. A total of 103 (87.3%) individuals of the 118 ATOMIX patients had 52-week follow-up values.

Results

Description of subjects

Clinical characteristics of the patients included in the ATOMIX group and of the subjects included in the control group are presented in Table I. As expected, patients with CHL had higher body mass index, TC, TGs, and LDL-C and lower HDL-C than controls. Also, men were overrepresented in the ATOMIX group, as commonly found in this type of dyslipidemia.

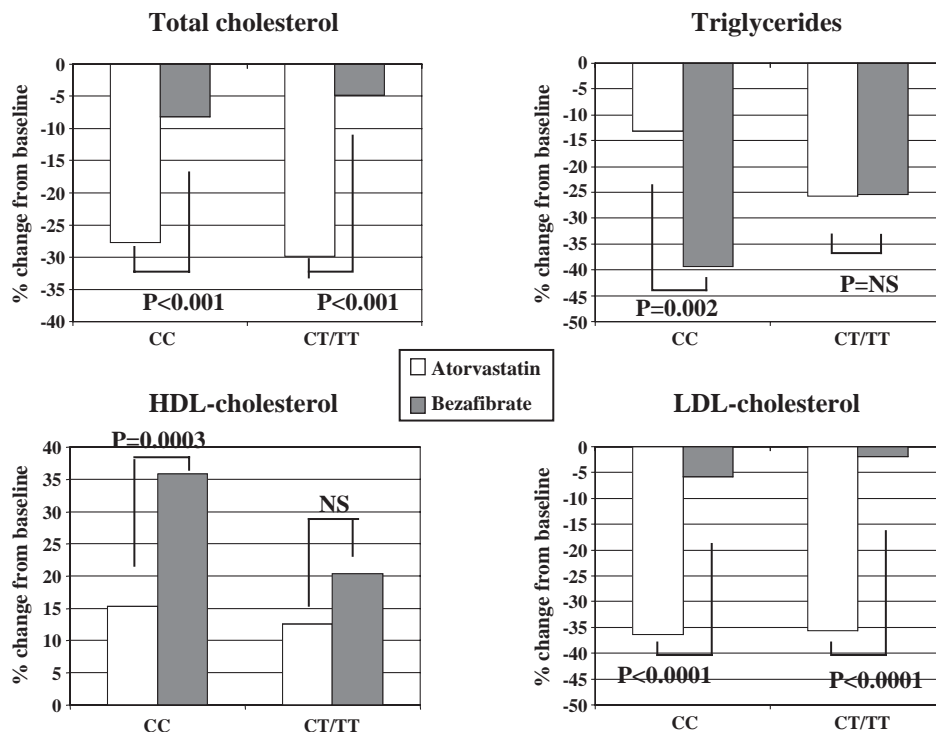
LIPC allele frequencies: comparison between groups

The resulting genotypic and allelic frequencies are shown in Table II. The genotype distributions of the $-514C \rightarrow T$ and N193S polymorphisms were in HW equilibrium in the ATOMIX ($P = .475$, $P = .346$, respectively) and in the control ($P = .177$, $P = .997$, respectively) groups. The $-514C \rightarrow T$ genotype distributions were different between subjects in CHL and control groups ($P = .014$). A clear excess of T allele was observed in the ATOMIX group, in which 12 homozygous TT subjects (7 on atorvastatin and 5 on bezafibrate) were observed, when the expected number was 2 ($P = .010$). The T allele frequency in the ATOMIX group was statistically higher than in the control group (0.297 vs 0.193, $P = .010$). There were no statistical differences in the genotypic and allelic distributions for N193S polymorphism between the studied groups.

Relation of *LIPC* polymorphisms to baseline lipid and lipoprotein cholesterol concentrations

Baseline lipid and lipoprotein values were the average of 3 measurements on a low-cholesterol diet in the ATOMIX group and 1 sample obtained on free-living diet in the control group. Obtained results are presented in Table III. A significant difference in HDL-C levels among genotypes of the $-514C \rightarrow T$ promoter polymorphism in *LIPC* gene was observed. Subjects carrying single or double doses of T allele had concentrations approximately 10% higher than homozygotes for the C allele (50.8 ± 1.86 vs 45.9 ± 1.40 mg/dL, $P = .021$). However, this difference was observed only in the control group because the HDL-C distribution was uniform among $-514C \rightarrow T$ genotypes in the ATOMIX group. In the control group, both men and women carrying the T allele

Figure 2



Comparison between atorvastatin and bezafibrate in mean percentage change in lipids and lipoprotein cholesterol after 12 months of treatment according to $-514C \rightarrow T$ *LIPC* promoter polymorphism.

had higher HDL-C concentrations, but the difference was more pronounced in men (37.9 ± 1.88 vs 45.7 ± 2.86 mg/dL, $P = .02$).

The N193S (+651A \rightarrow G) polymorphism was associated with changes in TC and LDL-C values in the ATOMIX group but not in the control group. Carriers of the minor allele in the ATOMIX group showed lower TC and LDL-C concentrations than patients carrying the wild allele (274 ± 3.72 and 181 ± 3.50 mg/dL vs 289 ± 4.00 and 194 ± 3.76 mg/dL, respectively, $P < .01$ in both cases). This lowering effect of the G allele was observed with the same magnitude in men and women.

LIPC polymorphism modulates the lipid-lowering effect of bezafibrate but not of atorvastatin

Of the 118 subjects, 57 were treated with atorvastatin and 61 with bezafibrate. The main features of the 2 studied groups were found to be similar in both groups except for sex, with 12 women in the atorvastatin group and 22 in the bezafibrate group. Therefore, this fact was taken into account in the statistical analysis.

The lipid-lowering effect of atorvastatin and bezafibrate after 12 months of treatment according to *LIPC* gene polymorphisms is shown in Table IV. Values did not differ from the variation observed after 6 months of treatment.

Subjects carrying the T allele of the $-514C \rightarrow T$ polymorphism showed a significantly lower response on bezafibrate with respect to TGs and HDL-C than subjects homozygous for the C allele. Triglyceride reduction with bezafibrate reached 25.5% in carriers of T allele versus 39.4% in those homozygous for the C allele ($P = .089$). The HDL-C variation was 20.4% in subjects with the T allele and 35.8% in the C homozygotes ($P = .007$). There was a clear T allele dose-response in the bezafibrate group because homozygous subjects for the T allele ($n = 5$) had the lowest response for TGs and HDL-C, the C allele homozygotes ($n = 33$) the highest response, and the CT heterozygous subjects ($n = 23$) an intermediate response (Figure 1). No effect of $-514C \rightarrow T$ polymorphism was found in TC and LDL-C variation in bezafibrate group. In contrast to bezafibrate, the lipid-lowering effect on TC, TGs, and

LDL-C and the raising effect on HDL-C of atorvastatin were not associated with the $-514C \rightarrow T$ variation.

The $+651A \rightarrow G$ (N193S) polymorphism was not associated with the lipid-lowering effect of neither atorvastatin nor bezafibrate (Table IV).

The better response of bezafibrate over atorvastatin on TGs and HDL-C is only present in subjects homozygous for the $-514C$ allele

The association of each of these polymorphisms with variability in response to atorvastatin and bezafibrate treatments was assessed by comparing the percentage variation of lipid levels between pretreatment baseline and 12 months posttreatment levels.

Percentage variation of lipid values after 6 and 12 months of treatment regarding the baseline lipid values before treatment showed that atorvastatin produced a larger decrease in TC and LDL-C than bezafibrate, whereas bezafibrate showed a larger effect decreasing TGs and increasing HDL-C.

The atorvastatin lipid-lowering effect was superior to that obtained with bezafibrate with respect to TC and LDL-C, without any significant effect when the *LIPC* gene polymorphisms were considered. In contrast, the $-514C \rightarrow T$ polymorphism was associated to significant effects with the bezafibrate treatment. Those subjects carrying the $-514T$ allele showed similar response with respect to TG decrease and HDL-C increase with both drugs, mainly because of the weaker TG and HDL-C effects of bezafibrate on subjects carrying the $-514T$ allele. However, bezafibrate caused a larger effect decreasing TGs and increasing HDL-C than atorvastatin only in subjects homozygous for the $-514C$ allele (Figure 2).

Discussion

At least 5 different studies²²⁻²⁶ have determined the $-514T$ allele frequency in more than 13 000 subjects in different white populations, with frequencies ranging from 0.162 in Southern Europe²² to 0.228 in the Bogalusa Heart Study.²³ In the 2 largest studies, the Copenhagen City Heart Study with 9121 subjects²⁴ and the Framingham Study with 2130 subjects,²⁵ the $-514T$ allele frequencies were 0.212 and 0.198, respectively. The $-514T$ allele frequency in our control group was 0.193, in half-range of that previously observed. Interestingly, the $-514T$ allele frequency in patients with CHL was 0.297, statistically higher than in the control group and than in previously reported studies with control populations. This higher $-514T$ allele frequency in the CHL group was due to a 6 times more TT homozygous subjects than expected (observed 12, expected 2). This would suggest that the $-514T$ allele in homozygosity could be a genetic risk factor for developing CHL. No previous report has studied the possible

differences in the $-514C \rightarrow T$ polymorphism between a population with CHL and a normolipidemic control group. However, supporting our results, this polymorphism has been studied in 2 different groups of subjects with mixed hyperlipidemia associated to hyperapobetalipoproteinemia¹⁶ and type 2 diabetes.²⁷ In both studies, the $-514T$ allele frequency was higher than that reported in the general population: 0.286 and 0.262, respectively, and was very similar to that found in our study. The association between *LIPC* locus and CHL has also been found in Dutch and Finnish families with FCH.^{28,29}

The mechanism of this association is probably because of the fact that *LIPC* promoter with T at position -514 has approximately 30% lower activity than that with C at the same position.³⁰ This lower transcriptional activity of the $-514T$ allele has been associated with lower plasma HL activity^{12,14,15,31} and with several metabolic abnormalities associated with CHL, such as high TG levels,³¹ buoyant LDL particles,³² insulin resistance,²⁹ and high levels of preprandial and postprandial atherogenic lipoprotein particles containing apolipoprotein C-III and apolipoprotein B,²² and also, with coronary heart disease.^{24,26}

The lower plasma HL activity caused by the T allele of $-514C \rightarrow T$ polymorphism has been very consistently associated with high HDL-C concentrations in most of the studies,^{13,22,24-26,28,33} suggesting that this polymorphism causes an important interindividual variation in the plasma concentration of HDL-C¹² and explains genetic differences in HDL-C concentration between African American and white American men.¹⁵ This effect is due to the reduction in the hydrolysis of phospholipids and TGs by HL, leading to the formation of larger and more buoyant HDL₂ particles. As expected, the increased HDL-C concentration associated to the T allele is mainly due to higher HDL₂ fraction.^{25,26,33} In our study control group, T allele carriers had 4.9 mg/dL higher HDL-C concentrations than CC homozygous subjects. This 10% higher HDL-C concentration is similar to that obtained in most of the studies.^{24,29} Two important aspects of this association should be pointed out. First, as previously reported,^{28,34} in our study the association of the T allele with higher HDL-C was exclusively due to this effect in men, but not in women. Although HL has been reported to be stimulated by androgens,³⁵ the differential effect observed here was probably not due to that influence, as previously described.³⁶ Second, the effect of the T allele was only observed in the normolipidemic group of our study, but not in subjects with CHL. The effect of the $-514C \rightarrow T$ polymorphism on the lipid phenotype in CHL has not been previously studied. Allayee et al²⁸ have recently reported the effect of this polymorphism in 27 Dutch families with FCH, and they found significant higher HDL-C levels in the unrelated male spouses and

probands, but they did not find significant effect in individuals affected with FCH. One possible explanation to this lack of effect of the T allele in subjects with CHL is that abdominal fat, which is well correlated to HL activity in human beings³⁷ and increased in subjects with CHL, could mask the T allele effect. However, Nie et al¹⁴ have found the HDL-C-lowering effect of the T allele in presence of obesity. Probably, CHL is a complex phenotype with multiple genetic and environmental factors in which the effect of a single locus could be difficult to demonstrate, although it could have a major effect in some individuals.

The N193S (+651A→G) polymorphism was first described by Hegele et al³⁸ as a common genetic variation among whites, and later, it was associated with low HL activity in white men independently of the -514C→T polymorphism.¹⁴ In our study, the allele frequency of N193S polymorphism was identical in subjects with CHL and in the control group and was very similar to that previously reported.^{14,38} In this study, we have found that the N193S polymorphism in the HL protein has an impact on TC and LDL-C concentrations in subjects with CHL. Those subjects carrying serine at residue 193 had 5% and 7% lower TC and LDL-C, respectively, than those subjects homozygous for asparagine at codon 193. Although the relation of N193S polymorphism with HL activity or TC and LDL-C concentrations had not been previously studied, the association of HL genetic variation and LDL-C has been observed in other studies.^{22,39} Residue 193 does not seem to be directly involved in the catalytic or lipid substrate interaction sites,⁴⁰ and therefore, this association could be due to another polymorphism in linkage disequilibrium with N193S. Anyway, this association would seem to explain lipid variability among CHL subjects, although it requires further confirmation.

This prospective, double-blind, randomized study confirms that genetic variation at *LIPC* locus modulates the lipid-lowering drug response. Zambon et al¹⁶ described for the first time that the -514C→T polymorphism in *LIPC* gene influences lipid response to drugs. They studied 49 men with dyslipidemia and with elevated apolipoprotein B levels (≥ 125 mg/dL) and CAD diagnosed by coronary angiography, followed during 2.5 years after intensive lipid-lowering therapy with either lovastatin and colestipol or niacin and colestipol. This study showed that, with lipid-lowering therapy, homozygous subjects for the C allele had significantly greater decrease in HL activity, greater improvement in LDL density, and higher increase in HDL-C than subjects carrying the T allele. Furthermore, a better angiographic improvement in CC homozygotes was observed, with 96% of them experiencing CAD regression. However, Zambon et al did not report differential effects among drugs, probably because of

the low number of subjects studied and the combination of different lipid-lowering drugs in their study. More recently, Berk-Planken et al²⁷ have reported the lack of influence of the -514C→T polymorphism in the dose-dependent decrease in HL activity with atorvastatin in 133 subjects with type 2 diabetes. However, they did not report lipid variation in this population. Somekawa et al⁴¹ and Yamakawa-Kobayashi et al⁴² studied the effect of the -514C→T polymorphism on the effects of hormone replacement therapy on serum lipid values in postmenopausal Japanese women, finding that they were unaffected by the HL polymorphism. Our results fully support previous studies. We have found a profound effect of atorvastatin in the lipid-lowering effect in CHL subjects, but according to the Berk-Planken study,²⁷ without difference with respect to the HL promoter polymorphism. However, we have found a better lipid response with lower descent of TGs and higher elevation in HDL-C in those subjects with bezafibrate treatment, with a clear allele dose-response. These results are also in agreement with those of Zambon et al,¹⁶ in which a lipid-lowering drug with major effects on TGs and HDL-C, such as niacin, was also used. The effect of the -514C→T polymorphism on the lipid-lowering effect of fibrates had not been previously studied. However, fibrates behave differently to statins with respect to HL activity, and indeed, gemfibrozil has been reported to increase HL activity.⁴³ Therefore, it is conceivable that a different pattern of response with respect to polymorphism modifies HL gene expression.

Our results may have important clinical consequences. Statins, atorvastatin in our study, and all of them in other studies, showed a much higher potency than bezafibrate when lowering TC and LDL-C. In contrast, fibrates, bezafibrate in our study, have a more potent effect on TG lowering and HDL-C raising. However, the latter was only true in those subjects homozygous for the C allele of the -514C→T polymorphism, without finding differences in those subjects carrying the T allele, although they were almost half of the CHL population in our study.

In summary, a 6 times higher frequency than expected in the number of subjects with CHL carrying the T allele in position -514 of *LIPC* gene suggests a role of this locus in the pathogenesis of CHL. The -514T allele is associated with higher HDL-C concentration only in the normolipidemic population, but without a significant effect in the CHL group. Moreover, the -514C→T polymorphism modulates the lipid-lowering response to bezafibrate, with a better effect in those subjects homozygous for the C allele. In those subjects carrying the T allele, the effect on TGs and HDL-C of atorvastatin and bezafibrate did not show differences, in contrast with the decrease in TC and LDL-C that was higher with atorvastatin in all the *LIPC* genotypes.

This work has been supported by grants from Fondo de Investigación Sanitaria FIS RT/G03-181, FIS RT/C03-01, and FIS 03/1106. We acknowledge and thank the participants in the ATOMIX trial: Drs J Oliván, A Rodríguez-Botaro, Hospital Virgen Macarena, Sevilla, Spain; Drs E Ros, D Zambón, C Rodríguez-Villar, A Pérez-Heras, Hospital Clínico, Barcelona, Spain; Prof M Vilardell, Dr J Lima, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona, Spain; Dr JM Mostaza, Hospital Carlos III, Madrid, Spain; Drs X Pintó, M Vela, Hospital de Bellvitge, Barcelona, Spain; Drs A Hernández, C Morillas, Hospital Dr Peset, Valencia, Spain; Drs F Civeira, J Ferrando, Hospital Rojo-Villanova, Zaragoza, Spain; Dr A Espino, Hospital de la Merced, Osuna, Spain; Drs L Simoes, P da Silva, Centro Hospitalar Vila Nova de Gaia, Oporto, Portugal; Dr P Marqués da Silva, Hospital Santa Marta, Lisboa, Portugal; Dr F Almagro, Hospital de Guipúzcoa, San Sebastián, Spain; Prof J Millán, Dr L Álvarez-Sala, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain; Drs C Calvo, E López-Paz, Hospital Xeral, Santiago de Compostela, Spain; Dr M Zúñiga, Hospital de Valdecilla, Santander, Spain; Drs J Puzo, M Villarreal, Hospital General San Jorge, Huesca, Spain; Prof F Pérez-Jiménez, Dr P Castro, Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain; Drs A Mangas, A Macías, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz, Spain; Dr J Fernández-Pardo, Hospital General, Murcia, Spain; Prof C Rey-Joly, Dr G Aguilar, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; Drs J Gutiérrez-Fuentes, A Rueda, A Avellaneda, Hospital Clínico, Madrid, Spain; Drs J Moreira, JR Urgelés, Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca, Spain; Prof P Serra e Silva, Dr JM Silva, Hospital Universitario, Coimbra, Portugal; Dr JA Garrido, Hospital Arquitecto Marcide, El Ferrol, Spain; Dr MA Barba, Hospital General, Albacete, Spain; Dr P Gómez-Enterría, Hospital Central, Oviedo, Spain; Dr J Gómez Gerique, Central Laboratory Unilabs, Madrid, Spain.

References

1. East C. Combined hyperlipidemia as a risk factor for premature atherosclerosis disease. *Am J Med* 1999;107:46S-7S.
2. Steiner G. Risk factors for macrovascular disease in type 2 diabetes. Classic lipid abnormalities. *Diabetes Care* 1999;22(Suppl 3):C6-C9.
3. Ayyobi AF, Brunzell JD. Lipoprotein distribution in the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and familial combined hyperlipidemia. *Am J Cardiol* 2003;92:27J-33J.
4. de Graaf J, Stalenhoef AFH. Defects of the lipoprotein metabolism in familial combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:189-96.
5. Genest Jr JJ, Martin-Munley SS, McNamara JR, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992;85:2025-33.
6. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
7. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-9.
8. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, et al. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation* 1992;85:37-45.
9. Ordoñas JM, Shen H. Pharmacogenetics of lipid-lowering therapies. *Curr Atheroscler Rep* 2002;4:183-92.
10. Lambert G, Amar MJ, Martin P, et al. Hepatic lipase deficiency decreases the selective uptake of HDL-cholesteryl esters in vivo. *J Lipid Res* 2000;41:667-72.
11. Aouizerat BE, Allayee H, Bodnar J, et al. Novel genes for familial combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:113-22.
12. Cohen JC, Vega GL, Grundy SM. Hepatic lipase: new insights from genetic and metabolic studies. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:259-67.
13. Murtomaki S, Tahvanainen E, Antikainen M, et al. Hepatic lipase gene polymorphisms influence plasma HDL levels. Results from Finnish EARS participants. *European Atherosclerosis Research Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1879-84.
14. Nie L, Wang J, Clark LT, et al. Body mass index and hepatic lipase gene (LIPC) polymorphism jointly influence postheparin plasma hepatic lipase activity. *J Lipid Res* 1998;39:1127-30.
15. Vega GL, Clark LT, Tang A, et al. Hepatic lipase activity is lower in African American men than in white American men: effects of 5' flanking polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC). *J Lipid Res* 1998;39:228-32.
16. Zambon A, Deeb SS, Brown BG, et al. Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment. *Circulation* 2001;103:792-8.
17. Gómez-Gerique JA, Ros E, Oliván J, et al. Effect of atorvastatin and bezafibrate on plasma levels of C-reactive protein in combined (mixed) hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2002;162:245-51.
18. International Task Force of Coronary Heart disease. Prevention of coronary heart disease: scientific background and new clinical guidelines. Recommendations of the European Atherosclerosis Society. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1992;2:113-56.
19. García-Ofín AL, Civeira F, Arístegui R, et al. Allelic polymorphism -491A/T in apo E gene modulates the lipid-lowering response in combined hyperlipidemia treatment. *Eur J Clin Invest* 2002;32:421-8.
20. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
21. Civeira F, Pocoví M, Cenarro A, et al. Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996;127:273-82.
22. Jansen H, Chu G, Ehnholm C, et al. The T allele of the hepatic lipase promoter variant C-480T is associated with increased fasting lipids and HDL and increased preprandial and postprandial LpCIII: B. *European Atherosclerosis Research Study (EARS) II. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:303-8.
23. Chen W, Srinivasan SR, Boerwinkle E, et al. Hepatic lipase promoter C-514T polymorphism influences serial changes in HDL cholesterol levels since childhood: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis* 2003;169:175-82.
24. Andersen RV, Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, et al. Hepatic lipase mutations, elevated high-density lipoprotein cholesterol, and

- increased risk of ischemic heart disease: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1972-82.
25. Ordovas JM, Corella D, Demissie S, et al. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. *Circulation* 2002;106:2315-21.
 26. Jansen H, Verhoeven AJ, Weeks L, et al. Common C-to-T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2837-42.
 27. Berk-Planken II, Hoogerbrugge N, Stolk RP, et al. Atorvastatin dose-dependently decreases hepatic lipase activity in type 2 diabetes: effect of sex and the LIPC promoter variant. *Diabetes Care* 2003;26:427-32.
 28. Allayee H, Dominguez KM, Aouizerat BE, et al. Contribution of the hepatic lipase gene to the atherogenic lipoprotein phenotype in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2000;41:245-52.
 29. Pihlajamaki J, Karjalainen L, Karhapaa P, et al. G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1789-95.
 30. Deeb SS, Peng R. The C-514T polymorphism in the human hepatic lipase gene promoter diminishes its activity. *J Lipid Res* 2000;41:155-8.
 31. Tahvanainen E, Syvanne M, Frick MH, et al. Association of variation in hepatic lipase activity with promoter variation in the hepatic lipase gene. The LOCAT Study Investigators. *J Clin Invest* 1998;101:956-60.
 32. Zambon A, Deeb SS, Hokanson JE, et al. Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL₂ cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1723-9.
 33. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, et al. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:667-73.
 34. Guerra R, Wang J, Grundy SM, et al. A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:4532-7.
 35. Tikkanen MJ, Nikkila EA. Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids. *Am Heart J* 1987;113:562-7.
 36. Vega GL, Gao J, Bersot TP, et al. The -514 polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC) does not influence androgen-mediated stimulation of hepatic lipase activity. *J Lipid Res* 1998;39:1520-4.
 37. Katzel LJ, Coon PJ, Busby MJ, et al. Reduced HDL₂ cholesterol subspecies and elevated postheparin hepatic lipase activity in older men with abdominal obesity and asymptomatic myocardial ischemia. *Arterioscler Thromb* 1992;12:814-23.
 38. Hegele RA, Tu L, Connelly PW. Human hepatic lipase mutations and polymorphisms. *Hum Mutat* 1992;1:320-4.
 39. Hubacek JA, Waterworth DM, Piha J, et al. Polymorphisms in the lipoprotein lipase and hepatic lipase genes and plasma lipid values in the Czech population. *Physiol Res* 2001;50:345-51.
 40. Perret B, Mabile L, Martinez L, et al. Hepatic lipase: structure/function relationship, synthesis, and regulation. *J Lipid Res* 2002;43:1163-9.
 41. Somekawa Y, Umeki H, Kobayashi K, et al. Effects of hormone replacement therapy and hepatic lipase polymorphism on serum lipid profiles in postmenopausal Japanese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4766-70.
 42. Yamakawa-Kobayashi K, Somekawa Y, Fujimura M, et al. Relation of the -514C/T polymorphism in the hepatic lipase gene to serum HDL and LDL cholesterol levels in postmenopausal women under hormone replacement therapy. *Atherosclerosis* 2002;162:17-21.
 43. Kahri J, Vuorinen-Markkola H, Tilly-Kiesi M, et al. Effect of gemfibrozil on high density lipoprotein subspecies in non-insulin dependent diabetes mellitus. Relations to lipolytic enzymes and to the cholesteryl ester transfer protein activity. *Atherosclerosis* 1993;102:79-89.

Tendon Xanthomas in Familial Hypercholesterolemia Are Associated With Cardiovascular Risk Independently of the Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Mutation

Fernando Civeira, Sergio Castillo, Rodrigo Alonso, Erardo Meriño-Ibarra, Ana Cenarro, Marta Artied, Paula Martín-Fuentes, Emilio Ros, Miguel Pocoví, Pedro Mata; for the Spanish Familial Hypercholesterolemia Group

Objective—To investigate the significance of tendon xanthomas (TX) in heterozygous subjects with familial hypercholesterolemia (hFH).

Methods and Results—951 men and women with genetic diagnosis of hFH were studied, of whom 278 (29.2%) presented TX. TX frequency increased with age from 6.9% in subjects 20 to 30 years to 38.3% at 51 to 60 years, with a decrease in those older than 60 years. Total and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol were higher in TX⁺ than in TX⁻ subjects (439.0±78.5 mg/dL and 363.1±76.5 mg/dL versus 400.6±73.4 and 323.3±71.0, respectively; *P*=0.001). High-density lipoprotein (HDL) cholesterol was lower in TX⁺ than in TX⁻ subjects (50.4±15.0 mg/dL versus 53.1±14.8 mg/dL; *P*=0.005). Lp(a), apolipoprotein E genotype, and type of LDL receptor gene mutation showed no differences between groups. 102 TX⁺ reported premature cardiovascular disease (CVD) (36.7%) versus 93 TX⁻ (13.8%) (*P*=0.001). The relative odds for premature CVD were higher in women (4.49 versus 2.26), and increased in hFH younger than 51 years to 3.60 (95% CI, 1.703 to 7.608) in men and to 17.1 (95% CI, 2.697 to 108.920) in women. In the multivariate analysis, age, male sex, LDL cholesterol, and hypertension showed significant positive association with TX, whereas body mass index showed negative association with TX.

Conclusions—TX are associated with cardiovascular risk factors and higher CVD, indicating that their detection indicates the need for more aggressive lipid-lowering intervention. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1960-1965.)

Key Words: cardiovascular disease ■ familial hypercholesterolemia ■ xanthomas

Familial hypercholesterolemia (FH) is a genetic disorder of lipoprotein metabolism characterized by very high plasma concentrations of low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, deposition of cholesterol in extravascular tissues, such as tendon xanthomas (TX), and increased risk of premature coronary heart disease (CHD).¹ FH is a common autosomal codominant disease caused by defects in the low-density lipoprotein receptor (LDLR) gene.² In heterozygous FH patients, the clinical expression of FH is highly variable in terms of the severity of hypercholesterolemia, the presence of TX, and the age of onset and severity of CHD, even in subjects sharing the same LDLR gene defect.^{3,4}

TX are highly specific for FH in subjects with genetic high LDL cholesterol, and current recommendations include them as an important clinical diagnostic criterion.⁵ TX are composed of monocyte-derived foam cells resulting from intracellular accumulation of lipids and connective tissue.⁶

Approximately 30% to 50% of heterozygous FH (hFH) patients with genetic diagnosis have TX.^{3,4,7} The mechanism by which some subjects with hFH have develop TX and others do not, even while disclosing similar plasma LDL cholesterol levels and sharing the same LDLR gene mutation, is unknown.³ A previous report has suggested that the appearance of xanthomas in hFH is controlled by a second gene distinct from the LDLR gene, as yet not identified.⁸

The clinical significance of TX presentation heterogeneity has not been fully established. Because of the lipid and cellular similarities between TX and atherosclerotic plaques, it is conceivable that hFH subjects in whom TX develops could also have a higher predisposition to atherosclerosis. In fact, the presence of TX has been associated with very premature CHD,⁹ although a recent report from the Simon Broome register in the United Kingdom showed a similar CHD risk among patients with and without TX.¹⁰ However,

Original received March 18, 2005; final version accepted June 30, 2005.

From Unidad de Lípidos and Laboratorio de Investigación Molecular (F.C., E.M.-I., A.C., M.A., P.M.F.), Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, Spain; Departamento de Bioquímica (S.C., M.P.), Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza, Spain; Fundación Jiménez Díaz (R.A., P.M.), Madrid, Spain; Unidad de Lípidos, Servicio de Endocrinología y Nutrición (E.R.), Institut d'Investigacions Biomediques August Pi Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

Correspondence to Fernando Civeira, MD, Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Isabel La Católica 1-3, Zaragoza 50009, Spain. E-mail civeira@unizar.es

© 2005 American Heart Association, Inc.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. is available at <http://www.atvbaha.org>

DOI: 10.1161/01.ATV.0000177811.14176.2b

in both studies the diagnosis of hFH was based on clinical criteria, in which both TX and CHD play an important diagnostic role that could obscure interpretation of the results.

The Spanish FH register offers a good opportunity to explore the clinical meaning of TX.¹¹ In the register, >2000 nonrelated probands from lipid clinics all over Spain with clinical suspicion of FH have been included, and >200 different mutations have been identified.¹¹ Additionally, a rapid genetic micro-array-based test has been developed, permitting the genetic diagnosis of >1200 patients to date.¹²

Materials and Methods

Subjects

Subjects were selected from the Spanish FH register, supported by the "Fundación Española Hipercolesterolemia Familiar." The main characteristics of the register have been previously reported.^{11,12} In summary, a total of 77 lipid clinics throughout Spain recruited FH patients with the same clinical criteria. To homogenize criteria, all participants attended at least 3 different meetings specially oriented toward clinical diagnosis, including the physical examination of TX. hFH subjects were considered positive for cardiovascular disease (CVD) if they had a documented history of myocardial infarction, coronary artery bypass graft surgery, percutaneous transluminal coronary angioplasty, angina pectoris with angiographically coronary atherosclerosis (>50% stenosis), ischemic atherothrombotic stroke, or chronic arterial peripheral vascular disease. Premature CVD was considered if the first event occurred before age 56 in men and before age 66 in women. TX were clinically examined for at the local lipid clinics by inspection and palpation of tendons and were considered if the Achilles tendons appeared diffusely enlarged or if the Achilles tendons or extensor tendons of the hands were deformed by one or more focal nodularities.

All subjects with genetic diagnosis of hFH caused by functional mutations in the LDLR gene were selected for this study. Identification of mutations in Spain has been performed for our group in the past 10 years.^{11,12} Of these, all hFH with TX (TX⁺) (n=278, 138 women and 140 men) and all genetically diagnosed hFH without TX (TX⁻) older than 22 years (n=673 375 women and 298 men) were selected. This age cutoff point in the TX⁻ group was established because it was the age of the youngest TX⁺ hFH subject.

Mutations in the LDLR gene causing FH were classified, when possible, as receptor-defective or receptor-negative on the basis of the residual LDLR activity found in previously reported cultured cells with homozygous LDLR mutation (>5% for receptor defective and <5% for receptor negative).⁴ Mutations leading to a frame-shift and a truncated receptor were also considered as receptor-negative.⁴ All participants gave written informed consent and the protocol was approved by the local ethics committees.

Lipid Concentrations

Baseline out-of-treatment values for total cholesterol, triglycerides, and HDL cholesterol were provided in the clinical data set by the participating lipid clinics. Laboratory methods were standardized among lipid clinics. All the laboratories are participants in the standardization protocols developed by the Spanish Society of Clinical Biochemistry with coefficient of variation for cholesterol <3%.

Lipoprotein A

Lipoprotein a [Lp(a)] was determined in the central laboratory from fasting samples sent by the lipid clinics. Serum concentrations of Lp(a) were measured using kinetic immunonephelometry with polyclonal antibodies (Beckman).

Apolipoprotein E Genotyping

DNA was isolated from peripheral blood cells with the method of Miller et al.¹³ DNA was quantified and diluted to a final concentra-

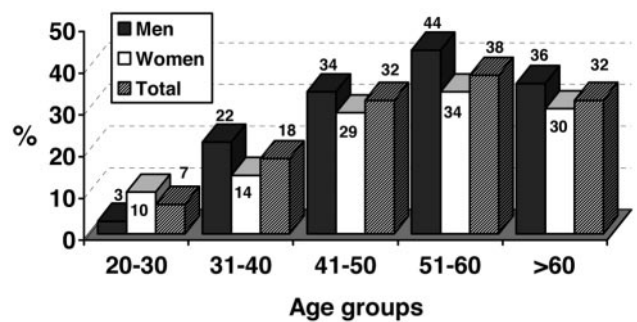


Figure 1. Percentage of hFH subjects with tendon xanthomas by deciles of age.

tion of 100 ng/L to be used for the polymerase chain reaction analysis. Apolipoprotein (apo) E genotypes were determined using the method of Hixson and Vernier,¹⁴ as previously described.¹⁵

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc) version 6.1.3. Distribution of quantitative variables was tested for normality. Differences in clinical characteristics between compared groups were tested with *t* test for continuous variables and with χ^2 test for categorical variables. Comparisons of quantitative variables without a normal distribution were made with nonparametric analysis using the Mann-Whitney nonparametric test. Multiple logistic regression analyses were performed with the presence of TX as the dependent variable. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant for all the above analyses.

Results

Frequency of TX in Heterozygous Subjects With FH

TX were clinically detected in 278 (29.2%) subjects. The frequency of TX was slightly higher in men (32.0%) than in women (26.9%), but this difference was not statistically significant ($P=0.087$). A clear relationship of TX with age was evident in men and in women (Figure 1). TX were rare in those younger than 30 years, and their frequency increased throughout life by $\approx 10\%$ for each decade in both sexes. Interestingly, the proportion of hFH with TX did not increase but in fact decreased in subjects older than 60 years in both sexes, probably indicating a poorer survival rate in subjects with TX.

Characteristics Associated With the Presence of TX

Table 1 shows the clinical variables analyzed in the study. Subjects with TX (TX⁺) were significantly older (54.0 ± 11.9 years versus 49.4 ± 14.2 years; $P=0.01$) than those without TX (TX⁻). There were no differences in the distribution of smoking habits between TX⁺ and TX⁻ subjects. Because many subjects were former smokers, especially the men, we calculated the level of cigarette consumption from the number of cigarettes consumed per day and the number of years smoking (cigarettes/day \times years). TX⁺ men showed an almost significant trend to higher consumption than TX⁻ men (269.8 ± 300.8 versus 203.4 ± 227.2 ; $P=0.060$). CVD was more prevalent among TX⁺ subjects in both sexes, but the age of the first event was only different in women. TX⁺ women reported their first CVD event 4.6 years earlier than TX⁻

TABLE 1. Characteristics of the Subjects in the Study*

	Men (n=438)			Women (n=513)			All (n=951)		
	TX ⁺ (n=140)	TX ⁻ (n=298)	P	TX ⁺ (n=138)	TX ⁻ (n=375)	P	TX ⁺ (n=278)	TX ⁻ (n=673)	P
Age, y	52.7±11.4	47.3±13.3	0.001	55.3±12.3	51.1±10.9	0.003	54.0±11.9	49.4±14.2	0.001
Sex, males/females							140/138	298/375	0.087
BMI, kg/m ²	26.7±3.52	26.6±3.43	0.677	25.8±5.12	26.3±5.21	0.514	26.2±4.40	26.4±4.53	0.973
Smoking, n (%)			0.268			0.996			0.212
Never	46 (33.3)	113 (38.8)		92 (68.1)	248 (68.1)		138 (50.5)	361 (55.0)	
Current	29 (21.0)	69 (23.7)		27 (20.0)	72 (19.8)		56 (20.5)	141 (21.5)	
Former	63 (45.7)	109 (37.5)		16 (11.9)	44 (12.1)		79 (28.9)	153 (23.4)	
Cigarettes/day×years	269.8±300.8	203.4±227.2	0.060	89.9±150.0	93.4±164.6	0.993	180.8±254.5	142.6±202.3	0.089
Premature CVD, n (%)	65 (46.4)	62 (20.8)	0.001	37 (26.8)	31 (8.3)	0.001	102 (36.7)	93 (13.8)	0.001
Age CVD onset, y	45.2±7.96	45.9±10.9	0.824	50.0±10.3	54.6±10.9	0.041	46.9±9.08	48.7±11.6	0.335
FHPCVD, n (%)	67 (48.2)	146 (49.8)	0.752	70 (52.2)	169 (45.3)	0.168	137 (50.2)	315 (47.3)	0.434
SBP, mm Hg	130.2±15.8	126.9±15.9	0.025	128.1±19.3	126.4±19.9	0.187	129.2±17.6	126.6±18.2	0.010
DBP, mm Hg	77.2±9.85	75.8±10.1	0.194	76.1±11.5	74.7±11.0	0.127	76.7±10.7	75.2±10.6	0.031
Diabetes, n (%)	4 (2.97)	9 (3.1)	0.918	6 (4.5)	10 (2.7)	0.321	10 (3.7)	19 (2.9)	0.521
Hypertension, n (%)	30 (21.7)	33 (11.3)	0.004	35 (26.3)	63 (17.3)	0.025	65 (24.0)	96 (14.6)	0.001
Total cholesterol, mg/dL	434.7±66.1	395.5±71.0	0.000	443.4±89.3	404.2±74.6	0.001	439.0±78.5	400.6±73.4	0.001
Triglycerides, mg/dL	137.7±93.5	128.6±73.1	0.254	103.5±46.8	109.4±50.9	0.262	120.8±76.1	117.8±62.2	0.840
LDLc, mg/dL	361.8±64.1	320.5±68.2	0.000	364.5±87.6	325.0±72.9	0.000	363.1±76.5	323.3±71.0	0.001
HDLc, mg/dL	45.1±11.8	48.0±14.1	0.133	55.8±16.0	57.1±14.1	0.186	50.4±15.0	53.1±14.8	0.005
LDLc/HDLc	8.57±2.73	7.29±2.79	0.034	7.17±3.02	6.09±2.20	0.001	7.88±2.96	6.61±2.55	0.001
Lp(a), mg/dL	49.3±47.5	41.4±45.3	0.122	52.2±56.1	45.1±46.3	0.261	50.9±51.9	43.4±45.9	0.061

*Quantitative values are mean±SD.

BMI indicates body mass index; cigarettes/day×years, number of cigarettes/day×number of years smoking; DBP, diastolic blood pressure; FHPVD, family history of premature CVD; HDLc, high-density lipoprotein cholesterol; Lp(a), lipoprotein (a); LDLc, low-density lipoprotein cholesterol; premature CVD, premature (younger than 55 years in men or younger than 65 years in women) cardiovascular disease; SBP, systolic blood pressure; TX⁺, subjects with tendon xanthomas; TX⁻, subjects without tendon xanthomas.

women (54.6±10.9 versus 50.0±10.3; $P=0.041$). The reported history of hypertension and the mean systolic and diastolic blood pressure were significantly higher in TX⁺ than in TX⁻ subjects (Table 1).

Total cholesterol and LDL cholesterol concentrations were ≈40 mg/dL higher in TX⁺ than in the TX⁻ (439.0±78.5 mg/dL and 363.1±76.5 mg/dL versus 400.6±73.4 and 323.3±71.0, respectively; $P=0.001$ in both cases). The differences in total and LDL cholesterol were consistently found in both sexes (Table 1). HDL cholesterol was lower in TX⁺ than in TX⁻ (50.4±15.0 versus 53.1±14.8; $P=0.005$), but this difference was because of the higher HDL cholesterol concentration and the lower incidence of TX in women than in men, in that HDL cholesterol concentrations did not differ in TX⁺ and in TX⁻ when the sexes were studied separately.

Lp(a) was higher in TX⁺ in men and in women, but the differences were slight and did not reach statistical significance (50.9±51.9 mg/dL versus 43.4±45.9 mg/dL, $P=0.061$).

Tendon Xanthomas and ApoE Genotype

The apoE genotype was analyzed in 681 (71.6%) subjects of the total sample, 230 TX⁺ (82.7%) and 451 TX⁻ (67.0%). ApoE genotype distribution and apoE3, apoE4, and apoE2 allele frequencies were similar to those previously reported in

the Spanish general population. There was a nonsignificant trend toward a higher frequency of apoE4 allele-containing genotypes among TX⁺ subjects (Table 2); this did not change when only E4/4 and E4/3 were compared with E3/3 subjects.

TX, Lipid Levels, and LDLR Gene Mutations

A total of 224 different mutations in the LDLR gene were responsible for hFH in the total group. The genetic defects included 206 different point mutations and 18 different large rearrangements in the LDLR gene. LDLR mutation could be classified in 677 cases as defective or negative according to the previously reported receptor residual activity "in vitro." In the remaining 274 patients, most with previously unreported mis-sense mutations and mutations affecting splicing, LDLR residual activity was unknown. No differences were found in the distribution of the type of the LDLR mutation and the presence of TX (Table 3). TX⁻ men and women with defective LDLR mutations and men with unclassified mutations had lower LDL cholesterol concentrations than men and women with negative LDLR mutations. This difference was not observed in TX⁺ subjects (Table 3).

Tendon Xanthomas and CVD

Premature CVD was present more frequently in TX⁺ than in TX⁻. A total of 102 TX⁺ reported premature CVD (36.7%)

TABLE 2. Apolipoprotein E Genotype Distribution Relative to the Presence of Tendon Xanthomas*

Genotype	TX ⁺ , n (%)	TX ⁻ , n (%)	P
Men			0.565
E3/3	85 (73.9)	147 (78.6)	
E2	6 (5.2)	6 (3.2)	
E4	23 (20.0)	33 (17.6)	
E2/4	1 (0.87)	1 (0.53)	
Women			0.090
E3/3	80 (69.6)	197 (74.6)	
E2	4 (3.5)	18 (6.8)	
E4	30 (26.1)	46 (17.4)	
E2/4	1 (0.87)	3 (1.1)	
All			0.375
E3/3	165 (71.7)	344 (76.3)	
E2	10 (4.3)	24 (5.3)	
E4	53 (23.0)	79 (17.5)	
E2/4	2 (0.87)	4 (0.9)	

*Apolipoprotein E genotype was determined in 681 subjects (230 TX⁺ and in 451 subjects TX⁻).

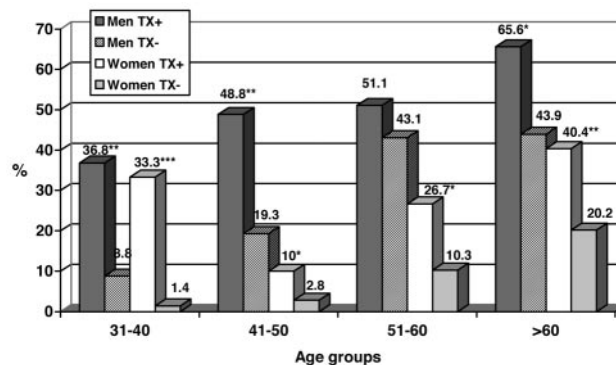
E2 includes E2/3 and E2/2 subjects; E4 includes E4/3 and E4/4 subjects.

TX indicates tendon xanthomas; TX⁺, subjects with tendon xanthomas; TX⁻, subjects without tendon xanthomas.

versus 93 TX⁻ (13.8%) ($P=0.001$). This higher frequency was present and highly significant in TX⁺ men and women (46.4% and 26.8% versus 20.8% and 8.3%, respectively) (Table 1). This strong association was present at all ages, but it was more pronounced in women at any age and in men younger than 51 years (Figure 2). The presence of CVD before 51 years of age was observed in 10 of 42 (23.8%) TX⁺ women and 5 of 175 (2.9%) TX⁻ women ($P=0.001$), and in 24 of 61 (39.3%) TX⁺ men and 13 of 168 (7.7%) TX⁻ men ($P=0.001$) (Figure 2).

Multivariate Analysis

Multiple logistic regression analyses were performed with the presence of xanthomas as dependent variable, and LDL



* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (within the same gender)

Figure 2. Percentage of hFH subjects with cardiovascular disease relative to the presence of tendon xanthomas by age groups and sex.

cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, body mass index, age, sex, cigarette consumption, family and personal history of premature CVD, hypertension, diabetes, apoE genotype, and the type of mutation in the LDLR gene as independent variables. ApoE genotype and the type of mutation in the LDLR were found not to be significantly associated with TX in the multiple logistic regression analysis and were taken out in further analyses to avoid missing values.

The multivariate analysis was performed with the whole population and with men and women younger than 51 years of age. LDL cholesterol and premature CVD were found to be significantly associated with TX (Table 4). When the analysis was performed by sex, age in men and TG in women were also significantly associated with TX. Although LDL cholesterol and premature CVD were the main associated variables in both sexes, the relative odds for premature CVD were higher in women (4.49 versus 2.26) than in men. This odds ratio increased when subjects younger than 51 years were considered, and increased to 3.60 (95% CI, 1.703 to 7.608) in men and to 17.1 (95% CI, 2.697 to 108.920) in women. It is noteworthy that all CVD classic risk factors disappeared, except LDL cholesterol, when premature CVD was present in

TABLE 3. Presence of Tendon Xanthomas and Lipid Levels Relative to the Type of Mutation in the LDLR Gene

	Men			Women		
	Defective	Negative	Unclassified	Defective	Negative	Unclassified
TX ⁺ , n (%)	42 (30.0)	50 (35.7)	48 (34.3)	38 (27.5)	43 (31.2)	57 (41.3)
LDLc, mg/dL	350.2±59.1	362.9±74.7	363.1±66.6	360.2±71.8	373.1±91.9	360.0±93.7
HDLc, mg/dL	44.4±12.8	44.5±9.88	46.4±12.6	59.1±13.8	52.3±15.9*	56.7±17.0
TG, mg/dL	115.7±43.5	161.3±139.2*	135.1±56.0	102.5±42.7	108.2±59.9	99.1±37.1
TX ⁻ , n (%)	105 (35.2)	120 (40.3)	73 (24.5)	141 (37.6)	137 (36.5)	97 (25.9)
LDLc, mg/dL	300.5±61.2	324.0±81.4*	335.0±63.2†	313.4±67.6	334.4±72.2*	327.9±80.0
HDLc, mg/dL	47.4±13.5	47.4±13.7	49.8±15.3	57.5±15.1	56.2±13.7	57.2±13.9
TG, mg/dL	128.0±71.6	133.9±87.4	119.7±43.8	103.6±45.2	113.9±55.8	111.2±49.8

Quantitative values are mean±SD.

TG indicates triglycerides.

* $P < 0.05$ negative vs defective; † $P < 0.01$ unclassified vs defective.

P denotes the significance of *t* test considering the type of LDLR mutation.

TABLE 4. Multiple Logistic Regression Analysis for Presence of Tendon Xanthomas in Heterozygous Subjects With Familial Hypercholesterolemia

	Variable	Odds Ratio	95% CI	P
Entire group*	LDL cholesterol	1.0067	1.005–1.009	0.001
	Premature CVD	3.137	2.211–4.452	0.001
Men	Age	1.0223	1.004–1.041	0.016
	LDL cholesterol	1.0081	1.005–1.011	0.001
	Premature CVD	2.2597	1.404–3.637	0.001
Women	LDL cholesterol	1.0068	1.004–1.010	0.001
	Premature CVD	4.4911	2.538–7.948	0.001
	Triglycerides	0.9922	0.987–0.997	0.003
Entire group†	LDL cholesterol	1.007	1.005–1.009	0.001
	Sex (women)	0.614	0.451–0.838	0.002
	Age	1.018	1.006–1.031	0.004
	BMI	0.954	0.917–0.991	0.016
	Hypertension	1.535	1.015–2.320	0.042

*The variables included in the model for association with the presence of TX included age, sex, BMI, smoking status, cigarette consumption, family and personal history of premature CVD, hypertension, diabetes, total cholesterol, triglycerides, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and Lp(a).

†The variables included in the model for association with the presence of TX included age, sex, BMI, smoking status, cigarette consumption, family history of premature CVD, hypertension, diabetes, total cholesterol, triglycerides, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and Lp(a).

the model. Therefore, we analyzed the multivariate analysis, removing premature CVD from the model. As a result, traditional risk factors such as age, male sex, LDL cholesterol, and hypertension showed significant positive associations with TX, whereas body mass index showed negative association with TX (Table 4).

Discussion

The importance of TX has been traditionally limited to clinical diagnosis of FH. TX has been used as a key feature for the diagnosis of FH worldwide.^{16–18} However, TX are not frequent at early ages; in fact, the youngest hFH subject with TX in our register was aged 23 years, and when clinically detected the frequency of TX is, approximately, one-third that of the subjects with genetic diagnosis (Figure 1). Therefore, sensitivity of TX is quite low for diagnosis of FH, especially in the case of younger relatives.¹⁹ The frequency of TX in hFH varies greatly among studies. This can probably be explained by the different mean ages of the subjects in the various studies, the methods of detection of TX used, and the criteria used for the diagnosis of FH. As one would expect, in those studies in which TX are a major clinical criteria the frequency of detection tends to be higher.¹⁰ In 2 previously published studies with genetically based diagnoses, the frequency of TX was 29% and 33.1%,^{4,7} quite similar to that obtained in our study. Ultrasonography accurately quantifies tendon thickness, which is enlarged when xanthomas are present. Because the Achilles tendon is the most common location for xanthomas to develop, ultrasonography of the Achilles tendon has been demonstrated to increase sensitivity

up to 75%, with, however, a probable loss of specificity regarding other forms of hypercholesterolemia.⁷

The mechanism of production of TX is not known. It is clear that several decades of very high LDL cholesterol in blood are needed in most cases for their formation, but some other factors must be involved, because not all hFH have TX develop, and some other forms of hypercholesterolemia, such as familial combined hyperlipidemia, also usually produce very high levels of LDL cholesterol for many years and TX never develops.²⁰ One factor that might be involved is the presence of hypercholesterolemia during childhood when tendons are growing. Another possibility is that enhanced mechanical stress caused by higher levels of exercise in TX⁺ than in TX⁻ subjects is involved in TX development. Unfortunately, a physical activity questionnaire was not included in the study.

Vergopoulos et al, studying the transmission of TX in a large Syrian kindred with FH, have described how TX in that family were probably caused by an unknown autosomal gene, distinct from LDLR.⁸ Several rare genetic diseases other than hypercholesterolemia produce TX, including cerebrotendinous xanthomatosis and sitosterolemia. Cerebrotendinous xanthomatosis is a rare autosomal recessive disease brought on by cholesterol accumulation in the brain, lens, and tendons of affected subjects; it is caused by mutations in sterol 27-hydroxylase (CYP27) gene.²¹ Sitosterolemia is also caused by accumulation of another noncholesterol sterol, sitosterol, caused by mutations in the ABCG5 or ABCG8 genes.²² Although the possible contribution of these genes to the development of TX in FH has not been explored, normal concentrations of both cholesterol and sitosterol have been reported in hFH.²³ Despite this, the question of plant sterol and other noncholesterol sterol in hFH subjects both with and without TX requires further attention.

Several conclusions may be drawn from our study about the mechanism of production of TX. First, as one would expect, because of the histological similarities between TX and atherosclerotic vascular lesions, TX are associated with traditional cardiovascular risk factors such as age, male sex, higher blood pressure, and higher LDL cholesterol concentrations. We could not find any association between TX and the apolipoprotein E genotype, in accord with what we have previously demonstrated for CVD,²⁴ nor with tobacco consumption even when the total amount consumed was considered. Second, the type of mutation in the LDLR gene is not an important factor associated with the presence of TX. FH is genetically heterogeneous in Spain, with >200 different mutations discovered so far. For this reason, the only possible approach was to classify the mutations as defective or null alleles when it was possible to do so. Negative alleles are usually associated with higher LDL cholesterol concentrations,²⁵ but LDL cholesterol variation in hFH is caused by multiple environmental and polygenic factors,²⁶ and when adjusted for LDL cholesterol, the type of mutation does not explain the presence of TX.

The most important finding of our study is the strong independent association found between the presence of TX and premature CVD. Men and women showed an increased risk when TX were detected during clinical examination. This was even more impressive in women, among whom premature CVD disease is not often seen even among hFH, but it is

very high in women with TX. Among the 15 women in whom CVD developed before age 50 year, 10 had TX, which means the odds ratio is 17.1 ($P < 0.0001$) (Figure 2). This has evident clinical implications, and TX must be seen as not only a diagnostic tool for FH but also, and more importantly, a prognostic factor, which should suggest a more aggressive approach to treatment for this subgroup of hFH subjects—something that has not previously been considered.⁵

One previous study has analyzed the clinical implication of TX in FH. The Simon Broome Register in UK recently published similar CHD mortality in subjects with and without TX,¹⁰ in clear contrast to our results. However, important differences in the inclusion criteria between the 2 studies may explain this discrepancy. In our study, suspected FH subjects were included because high total cholesterol concentration and genetic confirmation were required; thus, only patients with definitive and highly specific diagnoses were analyzed. In the Simon Broome Register, the diagnosis of FH was based on 2 possibilities: (1) hypercholesterolemia plus TX or (2) hypercholesterolemia plus personal or familiar history of premature myocardial infarction. As the authors pointed out, TX⁻ subjects in their study could be easily misclassified as FH and, in fact, the LDLR mutation detection rate for this group of TX⁻ patients is low (14% to 18%), much lower than in the TX⁺ patient group (32% to 79%).¹⁰

In summary, in this large group of genetically defined hFH adult subjects, TX were present in 29.2% of cases. The frequency increased with age until 60 years, and decreased after this, probably indicating a poor survival associated with TX. Subjects with TX were older and had higher systolic blood pressure, total cholesterol, and LDL cholesterol; they were more frequently men than women. Most importantly, there was a greater presence of premature CVD in subjects with TX, indicating that their clinical detection implies a higher cardiovascular risk that requires a more aggressive lipid-lowering intervention.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 00/0952, FIS 03/1106, RT/G03-181, RT/C03-01) and the Fundación Española Hipercolesterolemia Familiar. Marta Artieda is supported by the RT/C03-01 project, and Dr Ana Cenarro by Instituto de Salud Carlos III/FIS. For full composition of Spanish FH Group, please see <http://atvb.ahajournals.org>

References

- Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, NY: McGraw-Hill; 2001:2863–2913.
- Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest*. 2003;111:1795–1803.
- Ferrieres J, Lambert J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation*. 1995;92:290–295.
- Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, Pes G, Postiglione A, Stefanutti C, Blotta I, Pisciotto L, Rolleri M, Langheim S, Ghisellini M, Rabbone I, Calandra S. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:E41–52.
- Civeira F. International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:55–68.
- Kruth HS. Lipid deposition in human tendon xanthomas. *Am J Pathol*. 1985;121:311–315.
- Descamps OS, Leysen X, Van Leuven F, Heller FR. The use of Achilles tendon ultrasonography for the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2001;157:514–518.
- Vergopoulos A, Bajari T, Jouma M, Knoblauch H, Aydin A, Bahring S, Mueller-Myhsok B, Dresel A, Joubran R, Luft FC, Schuster H. A xanthomatosis-susceptibility gene may exist in a Syrian family with familial hypercholesterolemia. *Eur J Hum Genet*. 1997;5:315–323.
- Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC. Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2001;87:547–553.
- Neil HA, Huxley RR, Hawkins MM, Durrington PN, Betteridge DJ, Humphries SE; Simon Broome Familial Hyperlipidaemia Register Group and Scientific Steering Committee. Comparison of the risk of fatal coronary heart disease in treated xanthomatous and non-xanthomatous heterozygous familial hypercholesterolaemia: a prospective registry study. *Atherosclerosis*. 2003;170:73–78.
- Pocovi M, Civeira F, Alonso R, Mata P. Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med*. 2004;4:67–74.
- Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, Artieda M, Alonso R, Mata P, Simón L, Martínez A, Pocovi M, on behalf of the Spanish FH Group. A reliable low density DNA-array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem*. 2005;51:1137–1144.
- Miller S, Dykes D, Polensky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215.
- Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*. 1990;31:545–548.
- Pocovi M, Cenarro A, Civeira F, Myers RH, Casao E, Esteban M, Ordovas JM. Incomplete dominance of type III hyperlipoproteinemia is associated with the rare apolipoprotein E2 (Arg136→Ser) variant in multigenerational pedigree studies. *Atherosclerosis*. 1996;122:33–46.
- Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. *BMJ*. 1991;303:893–896.
- Umans-Eckenhausen MA, Defesche JC, Sijbrands EJ, Scheerder RL, Kastelein JJ. Review of first 5 years of screening for familial hypercholesterolaemia in the Netherlands. *Lancet*. 2001;357:165–168.
- Alonso R, Castillo S, Civeira F, Puzo J, La Cruz JJ, Pocovi M, Mata P. Heterozygous familial hypercholesterolemia in Spain. Description of 819 non-related cases. *Med Clin (Barc)*. 2002;118:487–492.
- Marks D, Thorogood M, Neil HA, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 2003;168:1–14.
- Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest*. 1973;52:1544–1568.
- Moghadasian MH. Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical course, genotypes and metabolic backgrounds. *Clin Invest Med*. 2004;27:42–50.
- Berge KE. Sitosterolemia: a gateway to new knowledge about cholesterol metabolism. *Ann Med*. 2003;35:502–511.
- Vuorio AF, Miettinen TA, Turtola H, Oksanen H, Gylling H. Cholesterol metabolism in normal and heterozygous familial hypercholesterolemic newborns. *J Lab Clin Med*. 2002;140:35–42.
- Mozas P, Castillo S, Reyes G, Tejedor D, Civeira F, Garcia-Alvarez I, Puzo J, Cenarro A, Alonso R, Mata P, Pocovi M; Spanish FH Group. Apolipoprotein E genotype is not associated with cardiovascular disease in heterozygous subjects with familial hypercholesterolemia. *Am Heart J*. 2003;145:999–1005.
- Gudnason V, Day IN, Humphries SE. Effect on plasma lipid levels of different classes of mutations in the low-density lipoprotein receptor gene in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1717–1722.
- Bertolini S, Pisciotto L, Di Scala L, Langheim S, Bellocchio A, Masturzo P, Cantafora A, Martini S, Averna M, Pes G, Stefanutti C, Calandra S. Genetic polymorphisms affecting the phenotypic expression of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;174:57–65.

Hiperlipemia familiar combinada. Criterios diagnósticos y terapéuticos

E. Meriño Ibarra, P. Martín Fuentes y F. Civeira Murillo

Unidad de Lípidos. Servicio de Medicina Interna y Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España.

La hiperlipemia familiar combinada (HFC) se caracteriza por hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia de transmisión dominante y un elevado riesgo cardiovascular. Aproximadamente un 10% de las familias en nuestro entorno presenta HFC. Sus bases moleculares se desconocen, pero es una enfermedad genética compleja con interacción con el ambiente, sobre todo con dietas hipercalóricas y obesidad. Recientemente se ha descrito un factor de transcripción (USF1) que podría ser el causante de parte del componente genético de la HFC. No hay ningún marcador genético útil en el diagnóstico de la HFC, que se basa en la hipercolesterolemia, la hipertrigliceridemia y la elevación de la apolipoproteína B.

El tratamiento de la HFC debe controlar la dislipemia y los factores de riesgo que se hallan asociados a ella, como la hipertensión arterial y la diabetes. En el tratamiento de la dislipemia, una dieta pobre en grasa saturada y lograr el normopeso son los pilares de la intervención. Cuando fallan, las indicaciones farmacológicas deben basarse en la concentración de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad y no difieren de las indicadas en la población general. Las estatinas son el tratamiento farmacológico de elección, y el fenofibrato o el gemfibrozil se prescriben en caso de cifras de triglicéridos > 500 mg/dl.

Palabras clave:

Hiperlipemia familiar combinada. Hiperlipemia mixta. Diagnóstico. Tratamiento.

FAMILIAL COMBINED HYPERLIPIDEMIA. DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC CRITERIA

Familial combined hyperlipidemia (FCH) is characterized by dominantly inherited hypercholesterolemia and/or hypertriglyceridemia and elevated cardiovascular risk. Approximately 10% of families in Spain have FCH. Its molecular bases are unknown, but it is a complex genetic disease that interacts with the environment, especially with high calorie diets and obesity. Recently, a transcription factor (USF1) that could be partly responsible for the genetic component of FCH has been described. There is no genetic marker that is useful in the diagnosis of FCH, which is based on hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and apoB elevation.

The treatment of FCH should control dyslipidemia and its associated risk factors such as hypertension and diabetes. The treatment of dyslipidemia is based on a diet low in saturated fat and achieving normal body weight. When these measures fail, pharmacological indications should be based on low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol concentrations and do not differ from those in the general population. The pharmacological treatments of choice are statins and fenofibrate or gemfibrozil when triglyceride levels exceed 500 mg/dl.

Key words:

Combined familial hyperlipidemia. Mixed hyperlipidemia. Diagnosis. Treatment.

Introducción

La hiperlipemia familiar combinada (HFC) fue descrita por primera vez por Goldstein et al en 1973 como un trastorno hereditario del metabolismo de los lípidos caracterizado por la elevación de las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos, o de ambas simultáneamente. La des-

Correspondencia: Dr. F. Civeira.
Unidad de Lípidos. Servicio de Medicina Interna.
Hospital Universitario Miguel Servet.
Avda. Isabel la Católica, 1-3, 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: civeira@unizar.es

cripción inicial surgió al estudiar a las familias de sujetos que habían sobrevivido a un infarto de miocardio y que, en su mayor parte, presentaron en el momento del ingreso una concentración de colesterol y/o triglicéridos superior al percentil 95 de un grupo control¹. Goldstein et al consideraron que la HFC era una enfermedad autosómica dominante con la característica de una baja prevalencia en los menores de 25 años, inferior al 20%, una frecuencia en la población general del 0,3-0,5% y un elevado riesgo coronario, ya que la HFC fue diagnosticada en el 11,3% de los sujetos < 60 años con un infarto agudo de miocardio¹.

Desde su descripción inicial hace más de 30 años, su definición no ha cambiado sustancialmente y en la actualidad es considerada como un «un trastorno caracterizado por la elevación de colesterol y/o triglicéridos en los miembros de una misma familia, asociado con un riesgo elevado de enfermedad coronaria prematura y una gran variabilidad en el fenotipo lipídico intraindividual e intrafamiliar»².

Frecuencia de la HFC y riesgo cardiovascular

Establecer la frecuencia real de la HFC es complicado en la actualidad debido a la ausencia de criterios inequívocos para su diagnóstico, como veremos más adelante. El estudio más importante para conocer el impacto de la HFC ha sido el Family Heart Study del NHLBI de Estados Unidos, que se ha publicado recientemente³. En dicho estudio se analiza la frecuencia de HFC, definida por concentraciones de colesterol total y/o triglicéridos superiores al percentil 90 en, al menos, 2 miembros de la misma familia, en 334 familias escogidas de forma aleatoria y en 293 familias con historia de enfermedad coronaria prematura. El porcentaje de diagnóstico de HFC fue del 10,2 y del 16,7% respectivamente³, lo que indica una frecuencia muy elevada de este fenotipo entre la población y un riesgo coronario no tan alto como el sugerido en la descripción inicial de la HFC.

Diagnóstico genético de la HFC

A pesar de los múltiples esfuerzos de diferentes grupos de trabajo en varias partes del mundo, las bases moleculares de la HFC no se han descubierto. Incluso el modo de herencia es discutido, aunque la mayor parte de autores la consideran como un trastorno hereditario complejo cuya expresión esta influida por factores genéticos, metabólicos y ambientales⁴. Los factores genéticos posiblemente son poligénicos, con heterogeneidad genética entre poblaciones y, tal vez, con la presencia de loci

modificadores de la expresión de algunos componentes metabólicos asociados a la HFC⁵. Se ha descrito que la variación en el clúster génico AIII-AIV-AV se ha relacionado con la concentración de triglicéridos⁶ y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL)⁷ y el tamaño de las partículas lipoproteínas de baja densidad (LDL)⁷; el gen de la lipasa hepática (LIPC) con cHDL⁸; el gen de lipoproteinlipasa con la concentración de triglicéridos⁹; o el gen de la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) con el tamaño de las LDL¹⁰.

Sin embargo, la región genética candidata que más consistentemente se ha encontrado asociada con la HFC se encuentra en el cromosoma 1 (1q21-23). Diferentes grupos han estudiado núcleos familiares y han mostrado un ligamiento entre esta región y los diferentes fenotipos asociados a la HFC^{11,12}. Recientemente, el gen localizado en esta región cromosómica que se ha asociado con HFC es el *USF1* (*upstream transcription factor 1*)¹³. *USF1* es un factor de transcripción que reconoce la caja E en la zona promotora de diferentes genes y modifica la activación transcripcional de distintos genes, principalmente relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono, las apolipoproteínas (CIII, AII y E), los genes de la familia ABC1 y la renina, por lo que podrían ser el nexo de unión de la frecuente asociación de diabetes, dislipemia e hipertensión arterial en la población general, y muy especialmente con HFC¹⁴.

A pesar de los prometedores hallazgos de los estudios sobre la genética, todavía no disponemos de ningún marcador suficientemente útil como para otorgarle un valor clínico en la HFC. Por este motivo, los análisis genéticos siguen reservados al campo de la investigación y no pueden ser empleados todavía en el diagnóstico de la HFC.

Diagnóstico bioquímico de la HFC

El diagnóstico clásico de la HFC se ha basado en las concentraciones elevadas de colesterol y/o triglicéridos en sangre. Sin embargo, estos 2 constituyentes lipídicos se han mostrado muy poco sensibles y específicos. En los 2 estudios de seguimiento realizados en familias diagnosticadas de HFC sobre la base de estos 2 constituyentes^{15,16}, hasta una tercera parte de los sujetos cambiaron el diagnóstico de afectado a no afectado, o viceversa, durante el seguimiento, que en un caso fue tan sólo de 5 años¹⁶. Los factores más relacionados con el cambio de estatus de no afectado a afectado fueron: una mayor edad al inicio del seguimiento, ser varón y, muy especialmente, la ganancia de peso. Estos estudios sugieren que debemos encontrar mejo-

res marcadores de enfermedad, que debieran buscarse a través del análisis de la patogenia del HFC.

La HFC se caracteriza por un aumento en la producción hepática de partículas ricas en triglicéridos, muy especialmente de partículas VLDL1, con alto contenido en triglicéridos y bajo en apolipoproteína A-1 y apolipoproteína E⁴ y, en ocasiones, asociado con una disminución de su catabolismo. Esto lleva a un aumento del número de partículas LDL pequeñas y densas y, por tanto, a un incremento de la apolipoproteína B (apo B). Por este motivo, desde el punto de vista bioquímico se han propuesto como buenos marcadores de HFC los aumentos de las partículas LDL pequeñas y densas, y de la concentración de apo B y triglicéridos^{4,16,17}. Debido a las dificultades técnicas en la determinación del tamaño de las LDL y a la buena correlación entre el tamaño de LDL y la concentración de triglicéridos, la cuantificación de LDL pequeñas y densas podría obviarse y, por tanto, utilizar la apo B y los triglicéridos como marcadores bioquímicos de la enfermedad. Este criterio ha sido defendido recientemente por un grupo de expertos en nuestro medio¹⁸.

Síndrome metabólico, resistencia a la insulina e HFC

Al igual que en la HFC, la resistencia periférica a la insulina se acompaña de hiperproducción hepática de partículas VLDL1, ricas en triglicéridos, y partículas LDL pequeñas y densas. La hiperinsulinemia induce la producción de este tipo de partículas, frente a las partículas VLDL2, con mayor contenido en colesterol y que en su catabolismo son transformadas en partículas LDL más grandes y menos densas, cuya producción no está regulada por la insulina⁴. En la actualidad, la mayor parte de los componentes del síndrome metabólico asociados con la resistencia a la insulina se relacionan con el aumento del contenido de grasa intraabdominal¹⁹, al igual que en la HFC, donde la hiperlipemia depende en gran medida del grado de obesidad del sujeto y, como se ha señalado anteriormente, el diagnóstico de un sujeto afectado de HFC en el seno de familias a lo largo del tiempo es muy dependiente del aumento de peso^{15,16}.

En realidad, la mayor parte de los sujetos con HFC tienen resistencia periférica a la insulina y, por tanto, la separación entre HFC e insulinoresistencia es muy complicada. Ascaso et al fueron los primeros en señalar la elevada frecuencia de resistencia a la insulina en sujetos con HFC afectados de enfermedad cardiovascular²⁰ y, posteriormente, se ha confirmado que la mayor parte del riesgo

cardiovascular asociado a los sujetos con HFC depende de la presencia de las manifestaciones asociadas con el síndrome metabólico relacionado con la resistencia a la insulina³. También es cierto que la resistencia periférica a la insulina no explica todas las diferencias lipoproteínicas entre sujetos con HFC y controles de igual peso para cualquier nivel de sensibilidad a la insulina²¹. Por tanto, parece evidente que la interacción entre factores genéticos todavía parcialmente conocidos y la resistencia periférica asociada al incremento de la grasa intraabdominal pueden explicar la mayor parte del fenotipo lipídico de los sujetos con HFC.

Diagnóstico de la HFC

Como se ha comentado anteriormente, no hay ningún marcador clínico, genético o bioquímico específico de la HFC, por lo que el diagnóstico lipídico basado en las concentraciones de colesterol total y triglicéridos propuesto hace más de 30 años sigue siendo el más utilizado en los diferentes estudios. La incorporación más reciente de la apo B parece ofrecer algunas ventajas sobre las determinaciones lipídicas clásicas, muy especialmente para identificar a los sujetos con HFC y mayor riesgo cardiovascular²². Al ser el colesterol, los triglicéridos y la apo B de variables continuas, sus concentraciones son muy dependientes de factores exógenos y hay un alto solapamiento entre la población general y los sujetos con HFC; en consecuencia, cualquier punto de corte para el diagnóstico de HFC resulta inexacto.

En la actualidad se dispone de 3 procedimientos principalmente recomendados para el diagnóstico de la HFC, que son:

1. Diagnóstico clásico. Se realiza según el propuesto por Goldstein et al en la descripción inicial de la enfermedad y se basa en la presencia de 2 o más familiares de primer grado en la misma familia con fenotipos IIb o combinaciones de fenotipos IIb con IIa o IV (definiendo el fenotipo IIa por concentraciones de cLDL > percentil 90 y triglicéridos < al percentil 90, el IIb por cLDL [o colesterol total] y triglicéridos > al percentil 90, y el IV por triglicéridos > al percentil 90 con cLDL [o colesterol total] < al percentil 90). La inclusión del colesterol total, en lugar de cLDL, en los fenotipos IIb y IV se basa en la dificultad del cálculo del cLDL en presencia de hipertrigliceridemia. Este diagnóstico clásico es el que todavía se sigue utilizando en la mayor parte de estudios. En la tabla 1 se expone una aplicación práctica basada en este diagnóstico clásico.

2. Diagnóstico basado en la concentración de apo B y triglicéridos. Presencia en 2 o más familia-

Tabla 1. Criterios diagnósticos de hiperlipemia familiar combinada

Criterios de familia afectada
Dos o más miembros de primer grado afectados de hiperlipemia mixta, o de combinaciones de fenotipos, entre hipercolesterolemia pura (fenotipo IIa), hiperlipemia mixta (fenotipo IIb) o hipertrigliceridemia (fenotipo IV)
Criterios de exclusión
Presencia de xantomas tendinosos en la familia
Concentraciones de cLDL > 300 mg/dl en 2 o más familiares de primer grado que presenten fenotipo IIa (hipercolesterolemia pura)
Criterios diagnósticos de afectados
En adultos, que pertenezcan a familias con hiperlipemia familiar combinada, CT > 240 mg/dL (o cLDL > 160 mg/dl) y/o triglicéridos TG > 200 mg/dL. En < 20 años pertenecientes a dichas familias, CT > 200 mg/dl (o cLDL > 130 mg/dl) y/o TG > 120 mg/dl
Causas secundarias de dislipemia
Criterios de exclusión
IMC > 35
HbA1c > 10% (en sujetos con hiperlipemia mixta o hipertrigliceridemia según criterios anteriores)
Hipotiroidismo (TSH > 5 mU/l)
Consumo de alcohol > 40 g/día
Consumo de fármacos (corticoides, antipsicóticos de nueva generación)
Enfermedad hepática, insuficiencia renal, procesos inflamatorios agudos, trasplantes, infecciones en fase aguda, neoplasias y procesos crónicos

cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; CT: colesterol total; TG: triglicéridos; IMC: índice de masa corporal.

res de primer grado con concentraciones de apo B > 1,2 g/l y de triglicéridos > 1,5 mmol/l. Este criterio ha sido propuesto recientemente por un grupo de expertos, entre los que figuran españoles¹⁸.

3. Diagnóstico basado en un normograma que incluye las concentraciones de colesterol, triglicéridos y apo B. Este normograma ha sido propuesto muy recientemente por Veerkamp et al, y se basa en el estudio de 32 familias holandesas con HFC definida, seguidas durante 5 años²³. Este normograma, que asigna un determinado número de puntos de acuerdo con el percentil de colesterol y triglicéridos y la concentración de apo B del sujeto, calcula la probabilidad de que éste se encuentre afectado de HFC, en el seno de una familia que presente un fenotipo lipoproteínico compatible (fig. 1).

Tratamiento de la hiperlipemia familiar combinada

El tratamiento de los pacientes con HFC debe perseguir los 2 objetivos: *a*) «normalizar» el perfil lipídico, y *b*) controlar otros factores de riesgo concomitantes, con lo cual se logrará reducir el riesgo cardiovascular y evitar o retrasar el desarrollo de

enfermedades que pueden acompañar a la HFC, como el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad.

Estos objetivos se pueden alcanzar con cambios terapéuticos en el estilo de vida y tratamiento farmacológico. Al igual que en la población general, el cLDL es la concentración hacia la que se encaminan las medidas terapéuticas en la HFC, de acuerdo con el nivel de riesgo cardiovascular a 10 años propuesto por las ecuaciones del ATP III. En pacientes con triglicéridos elevados (200-499 mg/dl), el colesterol no-HDL se convierte en objetivo terapéutico secundario (con objetivos cuyos valores son 30 mg/dl superiores a la concentración de cLDL). Cuando los triglicéridos son muy elevados (≥ 500 mg/dl), el objetivo terapéutico principal es disminuir sus concentraciones²⁴.

Cambios terapéuticos en los estilos de vida

En principio, los cambios terapéuticos en los estilos de vida en un paciente con HFC no difieren de los recomendados en el ATP III; solamente se debe insistir en evitar el excesivo consumo de alcohol y las dietas ricas en hidratos de carbono. Los cambios recomendados son:

– Evitar el tabaquismo.

– Evitar el consumo excesivo de alcohol. El ATP III recomienda no ingerir más de 2 consumiciones al día (~ 30 g de alcohol) para varones y no más de 1 consumición (~ 15 g de alcohol) para las mujeres (entiéndase por consumición: 150 ml de vino, 1 mediana [330 ml] de cerveza o 44 ml (1 ración) de whisky o equivalentes). Si el paciente presenta hipertrigliceridemia debe evitarse completamente el consumo de alcohol.

– Ejercicio físico y/o reducción de peso: el ejercicio físico y el ajuste de la ingesta calórica permitirán mantener el peso corporal deseable (índice de masa corporal < 25) y evitar el aumento de peso. Para personas sin enfermedad coronaria se recomienda realizar ejercicio físico durante 30 a 45 min, 4-5 días/semana, en períodos cortos de intensidad moderada (60-75% de la capacidad máxima). Para personas con enfermedad cardiovascular establecida se recomienda un incremento de la actividad física en general y la realización de ejercicios físicos bajo supervisión facultativa^{25,26}. El ATP III recomienda de forma general ejercicio moderado para un gasto energético diario de, al menos, 200 kcal²⁴.

– Dieta: se recomienda que del total de calorías de la dieta, menos del 7% corresponda a ácidos grasos saturados. La ingestión de ácidos grasos *trans* debe ser baja y se debe favorecer el consumo de aceite vegetal, margarina blanda y margarina li-

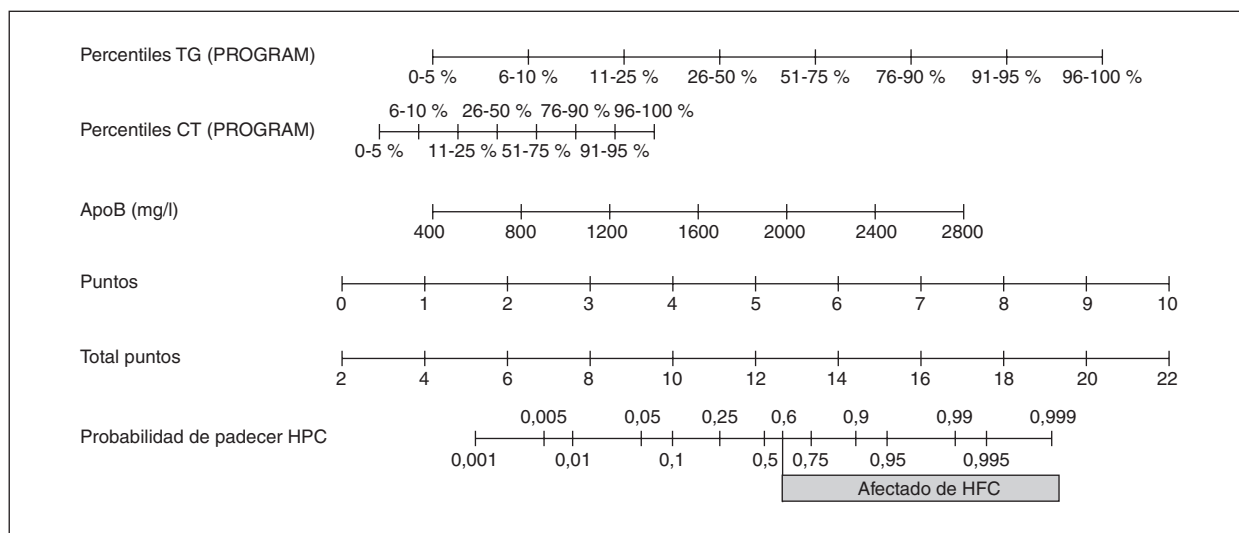


Figura 1. Nomograma para calcular la probabilidad de presentar una hiperlipemia familiar combinada. Tomada de Veerkamp et al²³.

HFC: hiperlipemia familiar combinada; TG: triglicéridos; CT: colesterol total; Apo B: apolipoproteína B.

bre de ácidos grasos *trans*. La ingesta de ácidos grasos monounsaturados puede representar hasta el 20% de las calorías totales; en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados, su consumo puede llegar hasta el 10% de las calorías totales. Las calorías provenientes de las grasas en general pueden llegar a constituir un 35% del total de calorías. No deberían consumirse más de 200 mg diarios de colesterol; no más del 50% de la ingesta calórica diaria debería corresponder a hidratos de carbono²⁴.

Otras medidas terapéuticas en la dieta pueden ser el aumento en el consumo de fibra soluble (5-10 g diarios), de alimentos enriquecidos con estanoles/esteroles vegetales a razón de 2-3 g diarios y de proteína de soja. El consumo de ácidos grasos omega-3 depende del tipo de paciente. Según recomendaciones de la American Heart Association, en pacientes sin enfermedad cardiovascular demostrada se recomienda ingerir pescado al menos 2 veces por semana, además de incluir aceites y alimentos ricos en ácido α -linolénico, como las nueces; los pacientes con enfermedad cardiovascular demostrada deben consumir 1 gramo de EPA + DHA por día, preferiblemente en forma de aceite de pescado, y los pacientes que necesitan reducción de triglicéridos pueden consumir hasta 2-4 g de EPA + DHA diarios²⁷.

Tratamiento farmacológico

Habitualmente se plantea que el tratamiento farmacológico de la HFC depende del fenotipo dislipi-

démico del paciente; sin embargo, si tenemos en cuenta las definiciones actuales de HFC, en las cuales la hipertrigliceridemia y la hiperapo B son fundamentales^{18,23}, es mejor clasificar las opciones terapéuticas farmacológicas según las concentraciones de triglicéridos, como se describe a continuación.

Pacientes con triglicéridos < 200 mg/dl

En estos casos, el objetivo primario es la «normalización» de las concentraciones de cLDL según el cálculo de riesgo cardiovascular a 10 años propuesto por el ATP III. En consecuencia, el fármaco de elección debe ser los inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas), que han demostrado ser efectivas para reducir las concentraciones de cLDL y el riesgo cardiovascular. En pacientes con HFC que presentan bajos niveles del ligando Fas (CD95L), medido a través de su forma soluble, las estatinas han demostrado tener un efecto ateroprotector al normalizar los niveles de este ligando, que es capaz de inducir apoptosis en las células mononucleares que intentan invadir la pared vascular²⁸. Con las estatinas se logra un efecto hipotrigliceridemiante que es variable dependiendo de la estatina y la dosis utilizada; por ejemplo, con el uso de la atorvastatina se logra una reducción de los triglicéridos de un 20-30%^{29,30}.

Pacientes con triglicéridos de 200-499 mg/dl

El objetivo primario en estos pacientes es reducir las concentraciones de cLDL según el cálculo de

riesgo cardiovascular a 10 años propuesto por el ATP III, y la reducción del colesterol no-HDL se convierte en objetivo secundario del tratamiento. Para el tratamiento se dispone, en primer lugar, de las estatinas, que no sólo reducen la concentración de cLDL sino que también son efectivas para reducir el colesterol no-HDL y, en pacientes con HFC, se ha demostrado que reducen la marginación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, paso previo para la migración de estas lipoproteínas por la pared vascular y su retención subendotelial³¹. Si con la dosis inicial de estatinas no se logran los objetivos terapéuticos propuestos, puede incrementarse la dosis, añadirse EPA + DHA en dosis de 2-4 g, con lo cual se pueden reducir los triglicéridos en un 30%³², y también puede añadirse el ácido nicotínico, no disponible en España, con el cual se obtiene una reducción de alrededor del 40% de las concentraciones de triglicéridos y un aumento concomitante del cHDL del 20-30%³³. Los fibratos (derivados del ácido fibríco) son otros fármacos disponibles que pueden añadirse a las estatinas, excepto en el caso del gemfibrozilo por su interacción con éstas. La combinación de fibratos y estatinas lograría una disminución de los triglicéridos del 40-60% y un aumento del cHDL del 15-25%. En pacientes con hiperlipemia combinada los fibratos (gemfibrozilo y fenofibrato) han demostrado disminuir las concentraciones de partículas similares a los remanentes (remanent like particles [RLP]), tanto en ayuno como en estado posprandial³⁴. Finalmente, la ezetimiba, un fármaco de reciente introducción, ha mostrado gran eficacia para reducir las concentraciones de cLDL, triglicéridos plasmáticos y colesterol no-HDL y para incrementar las de cHDL en combinación con las estatinas, logrando un cambio adicional de un -14, -7, -13 y 3%, respectivamente, al compararlo con la intervención con simvastatina en monoterapia. Por tanto, esta combinación (ezetimiba + estatina) constituye otra opción terapéutica realista^{35,36}.

Pacientes con triglicéridos \geq 500 mg/dl

En estos casos, el objetivo primario es reducir los niveles de triglicéridos para evitar una pancreatitis aguda. Las medidas no farmacológicas son muy importantes y destacan la eliminación del consumo de alcohol y la interrupción de fármacos que eleven los triglicéridos; cuando los niveles de triglicéridos superan los 1.000 mg/dl debe iniciarse una dieta muy baja en grasas que aporten menos del 15% de las calorías totales²⁴.

Los fibratos son los fármacos más recomendados teniendo en cuenta que reducen significativa-

mente los niveles de triglicéridos; por ejemplo, 1.200 mg diarios de gemfibrozilo logran una reducción de los triglicéridos séricos de hasta un 75%³⁷. Otras opciones farmacológicas son los ácidos grasos omega-3 (EPA + DHA) en las dosis previamente recomendadas y el ácido nicotínico en dosis > 2 g diarios²⁴.

Los pacientes con HFC pueden presentar concentraciones de cHDL disminuidas, pero los cambios terapéuticos del estilo de vida y las medidas farmacológicas anteriormente citadas contribuirán al incremento del cHDL³⁸.

Bibliografía

- Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest.* 1973;52:1544-68.
- Gaddi A, Galetti C, Pauciullo P, Arca M. Familial combined hyperlipoproteinemia: experts panel position on diagnostic criteria for clinical practice. Committee of experts of the Atherosclerosis and Dysmetabolic Disorders Study Group. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 1999;9:304-11.
- Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province MA, Pankow JS, Eckfeldt JH, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation.* 2003;108:519-23.
- Georgieva AM, Van Greevenbroek MM, Krauss RM, Brouwers MC, Vermeulen VM, Robertus-Teunissen MG, et al. Subclasses of low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein in familial combined hyperlipidemia: relationship to multiple lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:744-9.
- Aouizerat BE, Allayee H, Bodnar J, Krass KL, Peltonen L, De Bruin TW, et al. Novel genes for familial combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol.* 1999;10:113-22.
- Ribalta J, Figuera L, Fernández-Ballart J, Vilella E, Castro Cabezas M, Masana L, et al. Newly identified apolipoprotein AV gene predisposes to high plasma triglycerides in familial combined hyperlipidemia. *Clin Chem.* 2002;48:1597-600.
- Mar R, Pajukanta P, Allayee H, Groenendijk M, Dallinga-Thie G, Krauss RM, et al. Association of the Apolipoprotein AI/CIII/AIV/AV gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. *Circ Res.* 2004;94:993-9.
- Allayee H, Dominguez KM, Aouizerat BE, Krauss RM, Rotter JJ, Lu J, et al. Contribution of the hepatic lipase gene to the atherogenic lipoprotein phenotype in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2000;41:245-52.
- Hoffer MJ, Bredie SJ, Snieder H, Reymer PW, Demacker PN, Havekes LM, et al. Gender-related association between the -93T>G/D9N haplotype of the lipoprotein lipase gene and elevated lipid levels in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 1998;138:91-9.
- Aouizerat BE, Allayee H, Cantor RM, Dallinga-Thie GM, Lanning CD, De Bruin TW, et al. Linkage of a candidate gene locus to familial combined hyperlipidemia: lecithin: cholesterol acyltransferase on 16q. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2730-6.
- Pajukanta P, Nuotio I, Terwilliger JD, Porkka KV, Ylitalo K, Pihlajamaki J, et al. Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23. *Nat Genet.* 1998;18:369-73.
- Coon H, Myers RH, Borecki IB, Arnett DK, Hunt SC, Province MA, et al. Replication of linkage of familial combined hyperlipidemia to chromosome 1q with additional heterogeneous effect of apolipoprotein A-I/C-III/A-IV locus. The NHLBI Family Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2275-80.

13. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusi AJ, Gentile M, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet.* 2004;36:371-6.
14. Putt W, Palmen J, Nicaud V, Tregouet DA, Tahri-Daizadeh N, Flavell DM, et al. EARSII group. Variation in USF1 shows haplotype effects, gene: gene and gene: environment associations with glucose and lipid parameters in the European Atherosclerosis Research Study II. *Hum Mol Genet.* 2004;13:1587-97.
15. McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, Brunzell JD, Motulsky AG, Austin MA. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia: a 20-year prospective study. *Atherosclerosis.* 2001;159:471-81.
16. Veerkamp MJ, De Graaf J, Bredie SJ, Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Diagnosis of familial combined hyperlipidemia based on lipid phenotype expression in 32 families: results of a 5-year follow-up study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:274-82.
17. Ayyobi AF, McGladdery SH, McNeely MJ, Austin MA, Motulsky AG, Brunzell JD. Small, dense LDL and elevated apolipoprotein B are the common characteristics for the three major lipid phenotypes of familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1289-94.
18. Sniderman AD, Castro Cabezas M, Ribalta J, Carmena R, De Bruin TW, De Graaf J, et al. A proposal to redefine familial combined hyperlipidaemia: third workshop on FCHL held in Barcelona from 3 to 5 May 2001, during the scientific sessions of the European Society for Clinical Investigation. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:71-3.
19. Eckel RH. Familial combined hyperlipidemia and insulin resistance: distant relatives linked by intra-abdominal fat? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:469-70.
20. Ascaso JF, Lorente R, Merchante A, Real JT, Priego A, Carmena R. Insulin resistance in patients with familial combined hyperlipidemia and coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1997;80:1484-7.
21. Purnell JQ, Kahn SE, Schwartz RS, Brunzell JD. Relationship of insulin sensitivity and ApoB levels to intra-abdominal fat in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:567-72.
22. Lamarche B, Despres JP, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ. Prevalence of dyslipidemic phenotypes in ischemic heart disease (prospective results from the Quebec Cardiovascular Study). *Am J Cardiol.* 1995;75:1189-95.
23. Veerkamp MJ, De Graaf J, Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Nomogram to diagnose familial combined hyperlipidemia on the basis of results of a 5-year follow-up study. *Circulation.* 2004;109:2980-5.
24. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation.* 2002;106:3143-421.
25. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). Executive summary. *Atherosclerosis.* 2004;173:381-91.
26. Thompson PD, Buchner D, Piña IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. A statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation.* 2003;107:3109-16.
27. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, for the Nutrition Committee Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2002;106:2747-57.
28. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Sol JM, Díaz C, Hernández G, Egido J. Decreased circulating fas ligand in patients with familial combined hyperlipidemia or carotid atherosclerosis. Normalization by atorvastatin. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:1188-94.
29. Insull W, Kafonek S, Goldner D, Zieve F. Comparison of efficacy and safety of atorvastatin (10 mg) with simvastatin (10 mg) at six weeks. ASSET investigators. *Am J Cardiol* 2001;87:554-9.
30. Athyros VG, Papageorgiou AA, Athyrou VV, Demetriadis DS, Pehlivanidis AN, Kontopoulos AG. Atorvastatin versus four statin-fibrate combinations in patients with familial combined hyperlipidaemia. *J Cardiovasc Risk.* 2002;9:33-9.
31. Verseyden C, Meijssen S, Castro Cabezas M. Effects of atorvastatin on fasting plasma and marginated apolipoproteins B-48 and B-100 in large, triglyceride-rich lipoproteins in familial combined hyperlipidemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5021-9.
32. Connor WE. Fish oil in hypertriglyceridemia: safety and recommendations. *Lipids.* 1999;34 Suppl:S271.
33. Martin-Jadraque R, Tato F, Mostaza JM, Vega GL, Grundy SM. Effectiveness of low-dose crystalline nicotinic acid in men with low high-density lipoprotein cholesterol levels. *Arch Intern Med.* 1996;156:1081-8.
34. Ooi TC, Cousins M, Ooi DS, Nakajima K, Edwards AL. Effect of fibrates on postprandial remnant-like particles in patients with combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2004;172:375-82.
35. Davidson M, McGarry T, Bettis R, Melani L, Lipka L, LeBeaut A, et al, for the Ezetimibe Study Group. Ezetimibe co-administered with simvastatin in 668 patient with primary hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:2125-34.
36. Xydakis AM, Ballantyne CM. Combination therapy for combined dyslipidemia. *Am J Cardiol.* 2002;90:K21-9.
37. Leaf DA, Connor WE, Illingworth DR, Bacon SP, Sexton G. The hypolipidemic effects of gemfibrozil in type V hyperlipidemia. A double-blind, crossover study. *JAMA.* 1989;262:3154-60.
38. Sacks FM, for the Expert Group on HDL Cholesterol. The role of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol in the prevention and treatment of coronary heart disease: Expert Group Recommendations. *Am J Cardiol.* 2002;90:139-43.

Lipoproteínas clásicas, terapéuticas modernas. Farmacología de las lipoproteínas de alta densidad

F. Civeira, E. Bustamante, E. Jarauta y E. Meriño-Ibarra

Laboratorio de Investigación Molecular. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Zaragoza. España.

A pesar de que en varios ensayos clínicos con dosis altas de estatinas se alcanzan concentraciones óptimas de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), la incidencia de episodios cardiovasculares en éstos sigue siendo alta. La intervención sobre otros factores de riesgo, como el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL), puede lograr minimizar los episodios en sujetos con cLDL normal. Los estudios con fármacos que incrementan el cHDL son escasos y con resultados menos consistentes que los que logran una reducción de cLDL, expresión del complejo metabolismo de las HDL, y nos indica que la modificación de la concentración de cHDL no es el objetivo, sino mejorar sus funciones antiaterogénicas que incluyen el transporte reverso de colesterol y su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Los nuevos fármacos con actividad PPAR alfa y/o gamma, inhibidores de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (PTEC), inhibidores de los receptores cannabinoides, apolipoproteína A-I recombinante, agonistas LXR (*liver X receptor*) y FXR (*farnesoid X receptor*), son fármacos con alto potencial clínico al mejorar no sólo la concentración, sino las funciones deterioradas asociadas a un cHDL bajo.

Palabras clave:

HDL. Transporte reverso de colesterol. Tratamiento farmacológico. Apolipoproteína A

CLASSIC LIPOPROTEINS, MODERN THERAPIES. THE PHARMACOLOGY OF HIGH-DENSITY LIPOPROTEINS

Several clinical trials with high-dose statins have reported optimal low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) concentrations. However the incidence of cardiovascular episodes in these clinical trials continues to be high. Interventions designed to act on other risk factors such as high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) can minimize these episodes in subjects with normal LDL-C levels. Few studies have been performed with drugs that increase HDL-C and their results are less consistent than those that achieve a reduction of LDL-C, indicating the complex metabolism of HDL and that modification of HDL-C concentrations is not objective but rather improves its antiatherogenic functions, which include reverse cholesterol transport and its antioxidant and antiinflammatory capacity. New drugs with peroxisome proliferator activated receptors (PPAR) alpha and/or gamma activity, cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors, cannabinoid receptor inhibitors, recombinant apolipoprotein A-I, LXR and FXR agonists have strong clinical potential to improve not only the concentration but also the impaired functions associated with low HDL-C.

Key words:

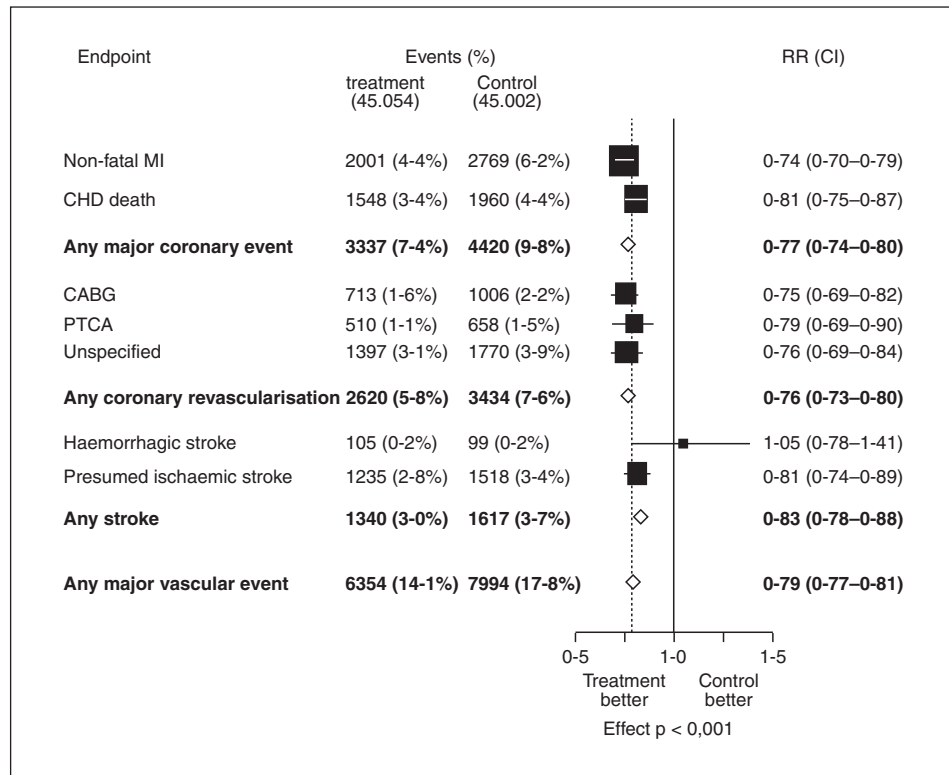
HDL. Reverse cholesterol transport. Drug treatment. Apolipoprotein A.

Correspondencia: Dr. F. Civeira
Laboratorio de Investigación Molecular.
Hospital Universitario Miguel Servet.
Avda. Isabel La Católica, 1-3. 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: civeira@unizar.es

Introducción

Durante los últimos años, el tratamiento de la hipercolesterolemia se ha convertido en un pilar

Figura 1. Efecto de la reducción del cLDL durante 5 años. Por cada mmol/l de reducción en el cLDL, se reducen un 21% los episodios vasculares importantes. cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad. (Tomada de Baigent et al².)



fundamental, posiblemente el más importante, para la prevención primaria y secundaria de las enfermedades cuya base patogénica es la arteriosclerosis. Los estudios de intervención hipolipemiente, de forma muy especial con las diferentes estatinas, han puesto de manifiesto que la intervención sobre las concentraciones elevadas de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) reduce de forma espectacular el número de episodios cardiovasculares en sujetos con alto riesgo vascular¹. En un reciente metaanálisis de 14 estudios prospectivos con estatinas, que incluyeron un total de 90.056 pacientes, el grupo de colaboración científica denominado Cholesterol Treatment Trialists (CTT) demuestra que por cada mmol/l (38,7 mg/dl) de reducción en la concentración de cLDL se reduce un 21% los episodios vasculares mayores².

Sin embargo, también es cierto que a pesar de conseguir descensos importantes en las concentraciones de cLDL hasta cifras consideradas actualmente como "óptimas", el número de sujetos que continúan teniendo episodios sigue siendo excesivamente elevado. En el estudio TNT (Treating to New Targets), donde 10.001 pacientes con cardiopatía isquémica y cifras de cLDL < 130 mg/dl fueron aleatorizados para recibir 10 u 80 mg de ator-

vastatina al día. Los sujetos en tratamiento con 80 mg de atorvastatina lograron mantener unas cifras medias de cLDL de 77 mg/dl durante el estudio. A pesar de ello, al final del seguimiento de 4,9 años, ocurrió un episodio cardiovascular importante en el 8,7% de los sujetos³.

Resultados similares se desprenden del estudio PROVE-IT, en el que 4.162 pacientes hospitalizados por un síndrome coronario agudo fueron aleatorizados a 40 mg de pravastatina u 80 mg de atorvastatina diariamente. Los pacientes con atorvastatina 80 mg que tuvieron una media de cLDL de 62 mg/dl durante el estudio, obtuvieron beneficio con respecto al grupo con pravastatina; pero, a pesar de ello, un 22,4% de ellos tuvo un episodio cardiovascular a lo largo de 2 años, incluyendo hospitalización por angina⁴.

Resulta evidente, según los datos anteriores, que todavía se está lejos de conseguir un buen control de la enfermedad arteriosclerótica, a pesar de las buenas expectativas apuntadas a finales del siglo xx⁵, y que el tratamiento únicamente de los factores de riesgo clásico como el tabaquismo, la hipertensión arterial y el aumento del cLDL pueda no ser suficiente, al menos, en algunos sujetos. Con esta idea, una opción muy atractiva es la posibili-

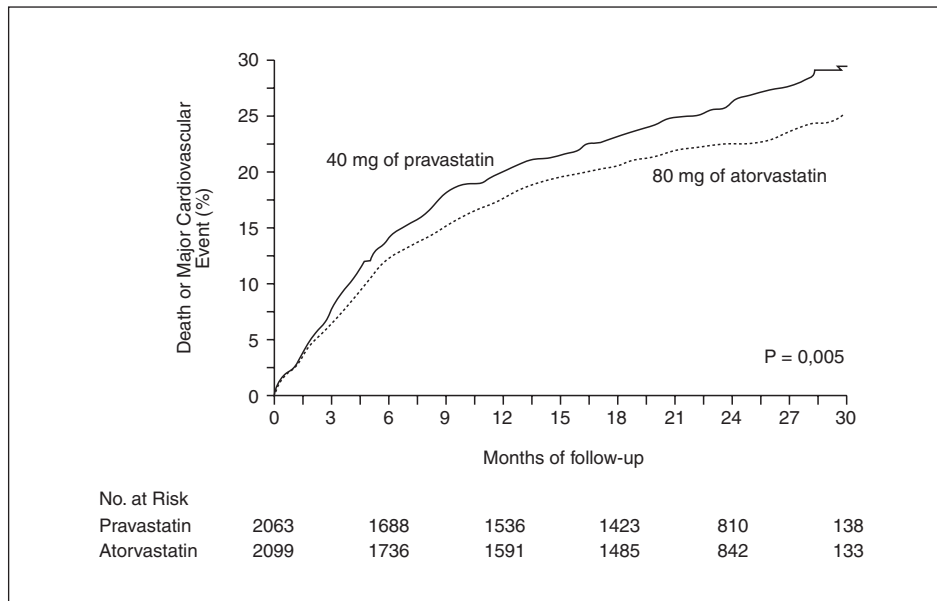


Figura 2. Incidencia de muerte o episodio cardiovascular en el seguimiento del estudio PROVE-IT. (Tomada de Cannon et al⁴.)

dad de aumentar farmacológicamente la concentración plasmática de cHDL.

Múltiples estudios epidemiológicos observacionales y prospectivos han demostrado que la concentración de cHDL se relaciona de forma inversa, intensa e independiente con la enfermedad cardiovascular, especialmente con la enfermedad coronaria, y en muchos estudios es el factor de riesgo con mayor poder predictivo^{6,7}. Incluso la diferencia en la frecuencia de la enfermedad cardiovascular prematura entre sexos se ha querido explicar por la diferente concentración de cHDL entre varones y mujeres⁷. Sin embargo, a pesar de la estrecha rela-

ción entre enfermedad cardiovascular y cHDL, que se conoce desde hace varias décadas, el tratamiento para modificar su concentración ha estado muy en segundo plano en la prevención cardiovascular. Este "abandono" terapéutico de la partícula HDL ha estado motivado por varias razones muy importantes. En primer lugar, el mecanismo o mecanismos por el que la partícula HDL se comporta como antiaterogénica sigue sin estar totalmente dilucidado; en segundo lugar, no se disponía de fármacos que de forma potente y selectiva modificaran la concentración del cHDL, y, además, en los estudios de intervención con los diferentes fármacos disponibles en el tratamiento de las dislipemias, el beneficio clínico no se había relacionado de forma clara con las modificaciones en la concentración del cHDL observada en dichos estudios.

Sin embargo, en los últimos años se ha avanzado de forma notable en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la partícula HDL, algunas de ellas con resultados muy prometedores, por lo que la partícula HDL parece que pudiera estar viviendo una "segunda juventud" durante la cual tomará un papel no sólo la predicción cardiovascular como en la actualidad, sino que se convertirá en un objetivo terapéutico como lo ha sido la concentración de cLDL.

En la tabla 1 se enumeran las principales herramientas farmacológicas, algunas de ellas disponibles y otras todavía en fase de investigación, para elevar la concentración plasmática de cHDL, y que se describen a continuación de forma más pormenorizada.

Tabla 1. Fármacos en el tratamiento del colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad

Hipolipemiantes	
Estatinas	
	Ezetimiba
	Fibratos
	Niacina
Otros fármacos	
	Agonistas PPAR-gamma: tiazolidindionas
	Inhibidores receptores cannabinoides: rimonabant
	Inhibidores PTEC: torcetrapib
Fármacos en desarrollo clínico	
	Perfusión de apo A-I: apo A-I Milano
	Agonistas PPAR-alfa y PPAR-gamma: ragaglitazar
	Agonistas PPAR-delta
	Péptidos recombinantes de apo A-I: D-4F
Moléculas en desarrollo preclínico	
	Activadores LXR: GW3965
	Inhibidores lipasa hepática

Inhibidores de la HMG CoA reductasa o estatinas

Las estatinas son los fármacos de elección en la mayor parte de casos cuando el objetivo del tratamiento es la reducción del cLDL. Además, las estatinas tienen un efecto nada despreciable en la reducción de los triglicéridos, al disminuir la síntesis de partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) hepáticas que está relacionada con la inhibición en la producción de colesterol⁸. Por este motivo, la reducción en los triglicéridos suele relacionarse con la intensidad en la reducción en la concentración de cLDL. Aproximadamente por cada 2 mg/dl de reducción en cLDL, las estatinas reducen 1 mg/dl la concentración de triglicéridos⁹. Las estatinas también modifican a la partícula de HDL, y aumentan entre un 3 y un 10% la concentración de cHDL. Sin embargo, los incrementos en cHDL no se relacionan bien con los descensos en cLDL y triglicéridos, lo que sugiere un mecanismo de acción diferente. Por ejemplo, la simvastatina reduce menos la concentración de cLDL y triglicéridos que la atorvastatina, pero tiene un efecto más potente sobre el aumento del cHDL⁹. La rosuvastatina, la más potente de las estatinas hasta la actualidad en la reducción de cLDL, parece tener también el perfil más potente en los ascensos del cHDL¹⁰. Todo ello sugiere diferencias metabólicas entre estatinas. El mecanismo responsable del incremento en la concentración de cHDL por las estatinas no es conocido, y pudiera relacionarse con el aumento en la expresión de apolipoproteína (apo) A-I vía PPAR-alfa al inhibir a una proteína de la familia Rho (Rho

A)¹¹. En la figura 3 se reflejan las modificaciones en la concentración de cHDL de las diferentes estatinas. A pesar de ello, no existen datos que sugieran que las diferencias en el metabolismo de las HDL entre estatinas tengan repercusión en los episodios clínicos, ya que los efectos clínicos de las estatinas guardan relación con la reducción del cLDL¹².

Por último, el efecto beneficioso en la reducción de episodios cardiovasculares con las estatinas se ha estudiado en relación con la concentración basal de cHDL, y se ha podido comprobar que las estatinas son eficaces a cualquier concentración de cHDL, sin diferencias entre los que tienen el cHDL bajo con respecto al resto. Sin embargo, debido al mayor riesgo de los sujetos con cHDL bajo, el beneficio absoluto es mayor y el número de sujetos a tratar para evitar un episodio es menor en el subgrupo de sujetos con hipoalfalipoproteinemia^{13,14}.

Ezetimiba

La ezetimiba es el primer fármaco disponible del nuevo tipo de fármacos denominado inhibidores selectivos de la absorción intestinal de colesterol. En monoterapia reduce de forma consistente la concentración de cLDL en torno al 17-20%, con descensos menores en la concentración de triglicéridos y ascensos pequeños, aunque significativos, de la concentración de cHDL¹⁵ (1-4%). Debido a que su principal indicación es en combinación con estatinas, es destacable que en coadministración mantiene el ascenso del cHDL¹⁶. Recientemente, se ha publicado un estudio acerca de la asociación

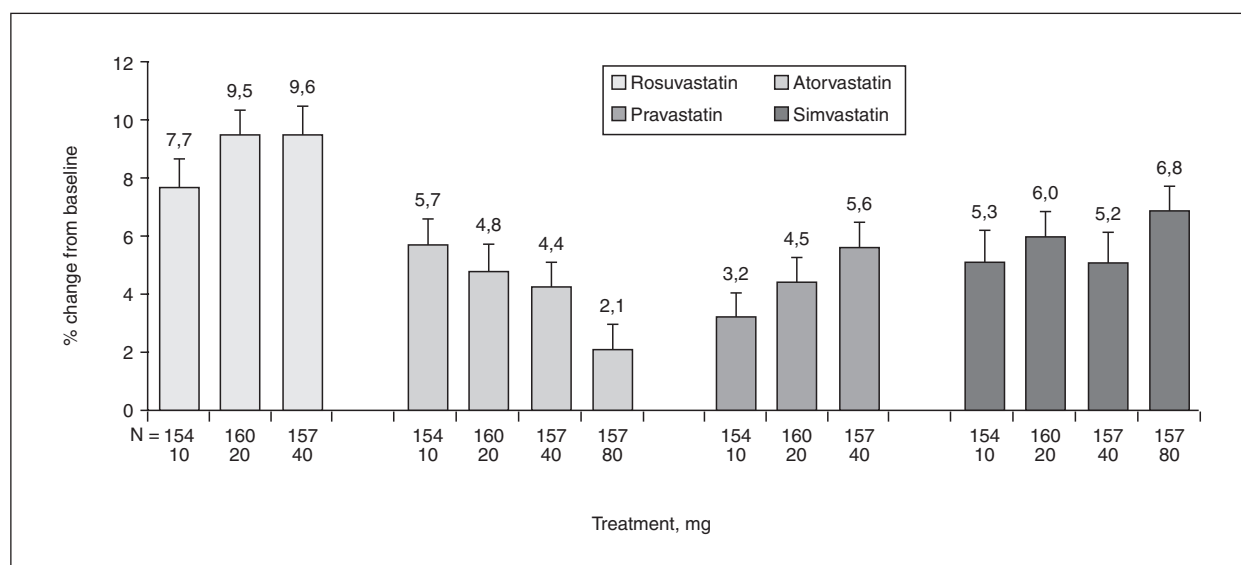


Figura 3. Cambios en el cHDL (%) con respecto a la concentración basal, tras 6 semanas de tratamiento con las diferentes dosis de estatinas. cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad. (Tomada de Jones et al¹⁰.)

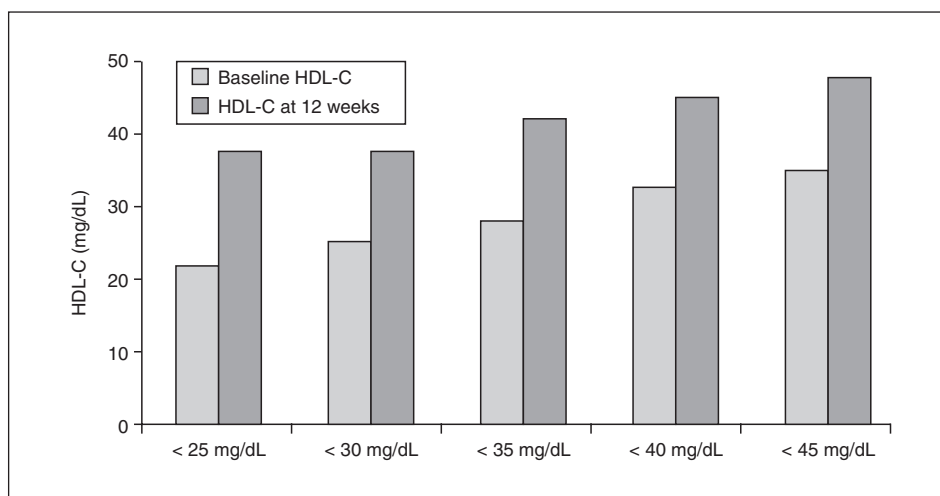


Figura 4. Cambios en la concentración de cHDL tras la administración de fenofibrato durante 12 semanas en función de la concentración basal de cHDL. cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad. (Tomada de Davidson et al¹⁹.)

ezetimiba y fenofibrato en sujetos con dislipemia mixta, muchos de los cuales tienen entre sus manifestaciones una concentración baja de cHDL. En combinación con fenofibrato, la ezetimiba se toleró bien, potenció el efecto sobre el cLDL del fenofibrato, pero no modificó de forma significativa la concentración de cHDL obtenida por el fibrato exclusivamente¹⁷.

Fibratos

Los fibratos son un grupo heterogéneo de fármacos cuyo efecto clínico principal es la reducción de triglicéridos. Su mecanismo de acción es complejo y no está totalmente aclarado, pero entre sus acciones muestra actividad agonista PPAR-alfa, factor de transcripción que modifica la expresión de genes importantes en el metabolismo lipídico, como apo A-I, apo C-III y lipoproteinlipasa. Así, aumentan el catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y disminuyen su síntesis hepática¹⁸. Aunque con diferencias entre los diferentes fibratos, ascienden la concentración de cHDL entre un 10 y un 35%, muy especialmente en dependencia de la cifra basal de triglicéridos y de cHDL. Su efecto sobre el cHDL es mayor en sujetos con hipertrigliceridemia y con cHDL bajo, y el incremento de este último puede ser > 50%¹⁹ (fig. 4).

En los 4 grandes estudios prospectivos con fibratos que tenían como objetivo principal la prevención cardiovascular, los incrementos de cHDL fueron: 6% con gemfibrozilo en el estudio VA-HIT (Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial)²⁰; 11% con gemfibrozilo en el Helsinki Heart Study²¹; 18% con bezafibrato en el estudio BIP (Bezafibrate Infarction Prevention Study)²², y 5% con fenofibrato en el reciente estu-

dio FIELD (Fenofibrate therapy on cardiovascular events in people with type 2 diabetes mellitus)²³.

Niacina

La niacina o ácido nicotínico o vitamina B3 es un importante precursor de un grupo de coenzimas que participan en la glucólisis, el metabolismo mitocondrial y en otras vías metabólicas importantes relacionadas con el metabolismo lipídico¹⁹. La niacina mejora de forma global el perfil lipoproteico, ya que desciende las VLDL y las LDL, e incrementa cHDL.

Existen 3 presentaciones de la niacina: niacina de liberación inmediata (IR), prolongada (*extended* en inglés, ER) y de larga duración o sostenida (LA). Se diferencian en la velocidad de su absorción intestinal, lo que modifica principalmente los efectos secundarios. La niacina IR se absorbe rápidamente y, con frecuencia, se asocia a rubicundez facial tras su administración; la formulación LA pocas veces produce rubicundez, pero se acompaña con frecuencia de hepatotoxicidad; la presentación ER se absorbe entre 8 y 12 h tras su administración, lo que permite su administración en una sola dosis diaria y minimiza sus efectos secundarios. La niacina ER actualmente se comercializa en muchos países con el nombre de Niaspan.

La niacina es el fármaco más potente de los comercializados hasta la actualidad para incrementar la concentración de cHDL, y logra de forma dependiente de la dosis incrementos entre el 15 y el 35%²⁴. El mecanismo de acción de la niacina sobre la partícula de HDL no está totalmente aclarado, pero parece que disminuye su catabolismo hepático durante el proceso de captación de colesterol desde la partícula de HDL por el hígado. Esto per-

mite mayor cantidad de partículas con apo A-I pobres en colesterol que son buenas aceptoras de colesterol periférico²⁵.

Diferentes estudios clínicos, con episodios clínicos como objetivo principal, avalan el uso de la niacina en el tratamiento de las dislipemias muy especialmente en la dislipemias mixtas. Se usó en monoterapia en el Coronary Drug Project, el objetivo combinado de muerte coronaria e infarto de miocardio no mortal se redujo un 11% en 5 años²⁶. En combinación con clofibrato, en el estudio de prevención secundaria de Estocolmo (Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention), la mortalidad coronaria se redujo un 36%, y un 26% la mortalidad total en los 5 años de seguimiento²⁷. Al menos 3 estudios angiográficos que han utilizado: niacina y colestipol en el estudio CLAS (Cholesterol Lowering Atherosclerosis)²⁸; niacina, lovastatina y colestipol en el estudio FATS (Familial Atherosclerosis Treatment Study)²⁹, y niacina y simvastatina en el estudio HATS (HDL-Atherosclerosis Treatment Study)³⁰, han demostrado el beneficio de la coadministración de la niacina con otros hipolipemiantes, muy especialmente en el estudio HATS donde la combinación redujo los episodios clínicos un 90%³⁰.

Agonistas PPAR-gamma: tiazolidindionas

Las tiazolidindionas o glitazonas son agonistas de los receptores nucleares PPAR-gamma, factores de transcripción que se expresan fundamentalmente en el tejido adiposo, y que son imprescindibles en la diferenciación y proliferación del adipocito. Además de intervenir en la captación y almacenaje de los ácidos grasos por parte del tejido adiposo, las 2 glitazonas disponibles, rosiglitazona y pioglitazona, son fármacos que se utilizan en la diabetes mellitus tipo 2, ya que la activación PPAR-gamma mejora la captación dependiente de insulina por parte de los tejidos periféricos al optimizar su sensibilidad a la insulina³¹. Al mejorar la lipogénesis en el tejido adiposo, mejoran la producción de adiponectina, disminuyen los ácidos grasos libres en plasma, el contenido graso hepático, la sensibilidad hepática a la insulina e inhiben la producción de glucosa³¹.

Los efectos de las glitazonas sobre el metabolismo lipídico consisten en una reducción de la concentración de triglicéridos, más marcada con la pioglitazona, y un aumento entre un 5 y un 13% en la concentración de cHDL. Los cambios en el cLDL parecen ser diferentes entre las glitazonas ya que no se modifican con la pioglitazona y tienden a subir en torno al 5-16% con la rosiglitazona (fig. 5). Estas diferencias posiblemente radican en que la

rosiglitazona es una agonista PPAR-gamma puro, y la pioglitazona es un agonista PPAR-gamma con actividad parcial alfa³². El mecanismo por el que las glitazonas ejercen su acción sobre las lipoproteínas plasmáticas no está establecido.

Muy recientemente se han publicado los resultados del estudio PROACTIVE, ensayo con una glitazona, la pioglitazona, en prevención secundaria cardiovascular en sujetos con diabetes tipo 2³³. Se aleatorizaron a pioglitazona 15-45 mg/día o placebo y seguidos durante casi 3 años, 5.238 pacientes diabéticos con antecedente de enfermedad macrovascular. El grupo en tratamiento con pioglitazona aumentó la concentración de cHDL un 19% con respecto al cHDL y un 10% con respecto al grupo placebo al final del estudio, por lo que confirmó que es un buen agente para lograr elevar la concentración de cHDL en población diabética. Más importante, hubo una reducción significativa del 16% en el objetivo combinado de muertes totales, infarto de miocardio no mortal e ictus, y una reducción del 53% en la necesidad de uso permanente de insulina; aunque aumentaron los episodios de insuficiencia cardíaca no mortales³³. Si el beneficio observado en el estudio PROACTIVE en el perfil lipídico se relaciona con la mejor evolución clínica con la pioglitazona no se ha publicado todavía³⁴.

Inhibidores de los receptores cannabinoides: rimonabant

El sistema endocannabinoides consiste en un grupo de productos endógenos derivados de fosfolípidos (endocannabinoides) y su receptor denominado CB1. Este sistema juega un papel muy importante en la regulación de la ingesta, al modificar el apetito por vía central y la lipogénesis periférica³⁵. El rimonabant es el primer antagonista de los receptores CB1 de uso clínico que ha demostrado, en diferentes estudios, inducir la pérdida de peso en obesos³⁶, a la vez que mejora su perfil metabólico de riesgo cardiovascular³⁷. En el estudio de rimonabant en sujetos con obesidad y dislipemia se aleatorizaron 1.036 sujetos con obesidad o sobrepeso (índice de masa corporal > 27 kg/m²) para tomar rimonabant 5 o 20 mg/día, o placebo durante 1 año. Los principales resultados del estudio se recogen en la figura 6, donde puede comprobarse como el rimonabant ejerció un potente efecto dependiente de la dosis sobre la concentración de cHDL con incrementos desde la cifra basal del 23,4% (11,2% sobre el placebo) y sin efectos sobre el cLDL³⁷. Las modificaciones sobre el cHDL fueron superiores a las esperadas por la pérdida de peso, lo que sugiere que el rimonabant puede me-

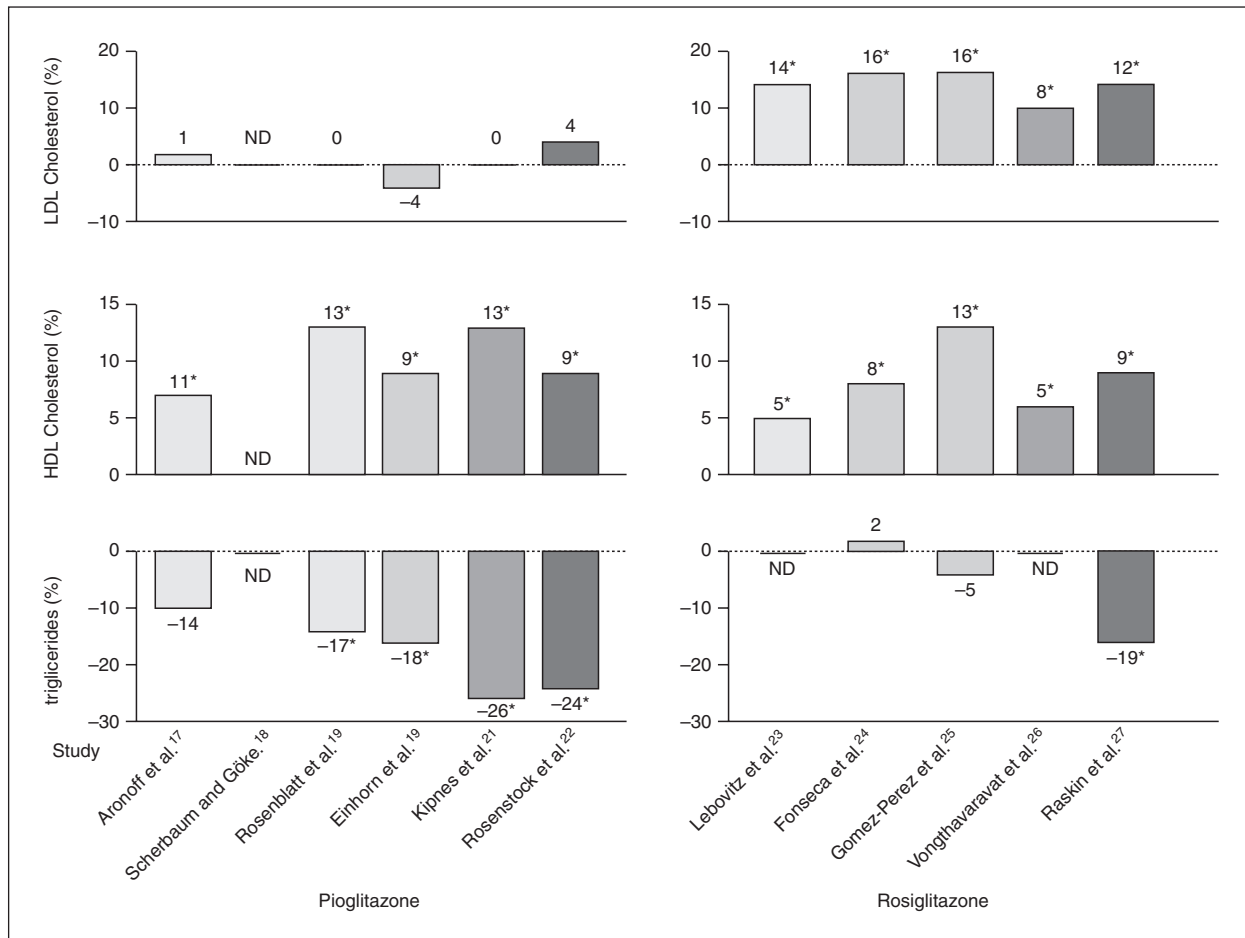


Figura 5. Efecto de la rosiglitazona (8 mg) y la pioglitazona (30-45 mg) en diferentes estudios sobre las concentraciones plasmáticas de lípidos. (Tomada de Yki-Jarvinen³¹.)

jorar el metabolismo periférico del tejido adiposo³⁸, como parece indicar la elevación encontrada en la adiponectina periférica y el descenso en la proteína C reactiva³⁷.

Inhibidores de la PTEC: torcetrapib

La PTEC modula las concentraciones de las lipoproteínas plasmáticas con la transferencia de lípidos no polares entre las diferentes lipoproteínas. Esta proteína transporta ésteres de colesterol desde la partícula de HDL a las lipoproteínas ricas en triglicéridos y a las LDL, y triglicéridos desde las lipoproteínas ricas en triglicéridos a las HDL³⁹. Los defectos genéticos de la PTEC se acompañan de un gran aumento en la concentración de cHDL, consecuencia de la acumulación en sangre de las partículas de HDL grandes tipo HDL1 y posiblemente un menor riesgo cardiovascular⁴⁰. Desde el punto de vista teórico, la inhibición de la PTEC puede evitar la transferencia de colesterol a las LDL y fa-

cilitar su eliminación hepática⁴¹. Éste parece ser el caso en algunos modelos animales como el conejo⁴².

El torcetrapib es un inhibidor parcial de la actividad de la PTEC que ha demostrado ser un fármaco muy potente para elevar la concentración de cHDL. En el estudio de Brousseau et al 19 sujetos con cHDL bajo recibieron 120-240 mg/día solo o en combinación con atorvastatina durante 4-8 semanas. El cHDL aumentó un 46% con 120 mg/dl, y un 106% con la dosis de torcetrapib de 240 mg/día⁴³. Además, las partículas de HDL y LDL aumentaron de tamaño, lo que se cree les confiere mayor protección cardiovascular⁴³. No se dispone de resultados de ningún estudio clínico con el torcetrapib en humanos con episodios clínicos como objetivo clínico, por lo que la repercusión sobre la enfermedad cardiovascular que la inhibición de la PTEC y los ascensos espectaculares en la concentración de cHDL que logran son desconocidos en el momento actual.

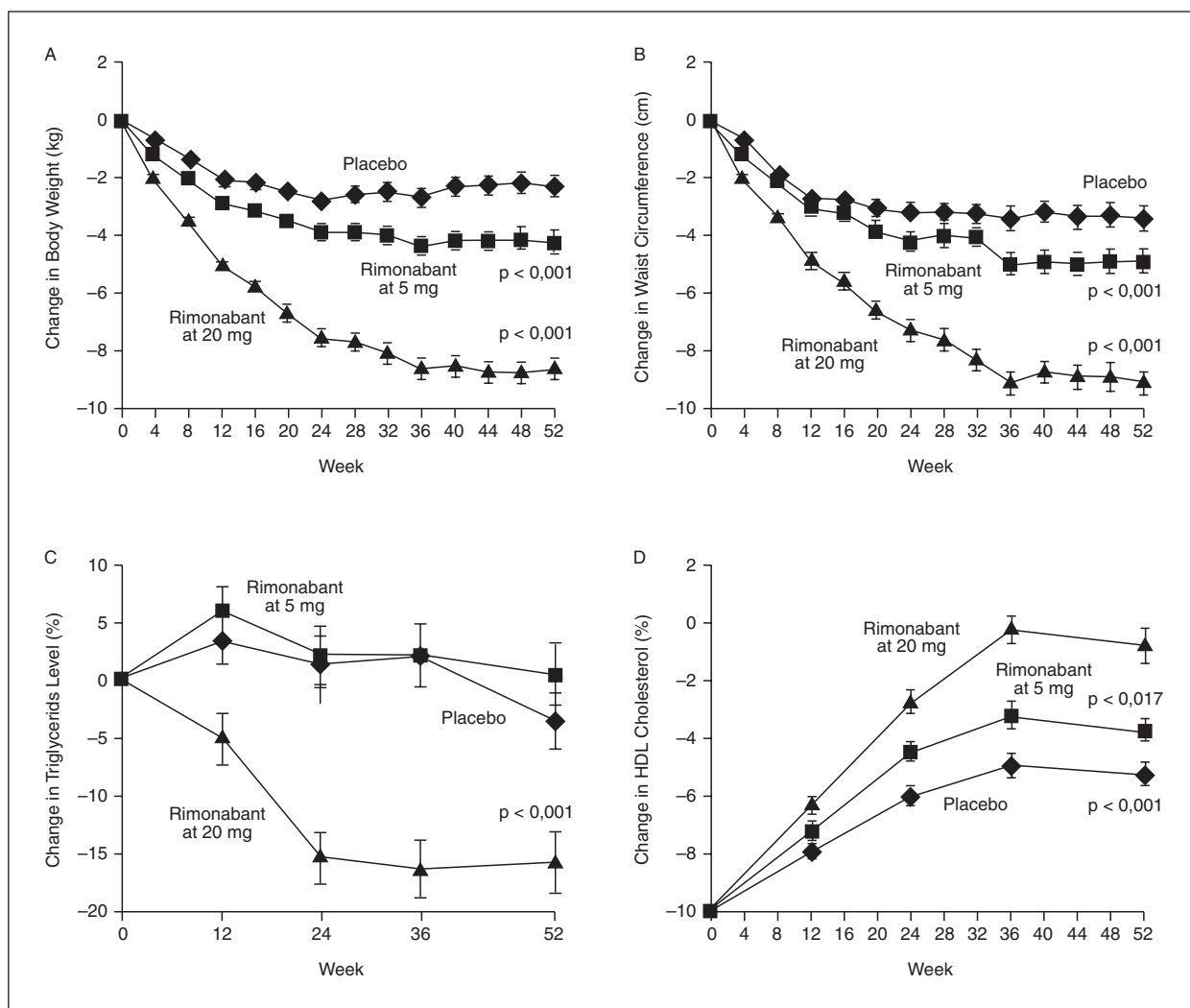


Figura 6. Cambios en peso (panel A), perímetro de circunferencia (B), triglicéridos (C) y cHDL (D) tras 52 semanas de rimonabant (5 o 20 mg/día) o placebo en sujetos con sobrepeso y obesidad. cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad. (Tomada de Despres et al³⁷.)

Apolipoproteína A-I Milano

La apo A-I Milano es una variante rara de la apo A-I que se caracteriza por una cisteína en posición 173 en lugar de arginina. Este cambio de aminoácido permite la formación de puentes disulfuro entre 2 moléculas de apo A-I que forman dímeros. Los sujetos con esta variante de apo A-I se caracterizan por concentraciones bajas de cHDL a pesar de lo cual parecen estar protegidos frente a la arteriosclerosis⁴⁴. El mecanismo ateroprotector de la apo A-I Milano radica en que los dímeros de apo A-I movilizan eficazmente colesterol de la periferia y, por tanto, los sujetos tienen un transporte reverso de colesterol más activo. Esto hace que la administración de apo A-I recombinante se plantee

como medida terapéutica para mejorar la concentración de cHDL, el transporte reverso de colesterol y la arteriosclerosis. Diferentes estudios en modelos animales de arteriosclerosis avalan el papel ateroprotector de la apo A-I Milano^{45,46}. Con esta hipótesis, Nissen et al estudiaron el efecto de la perfusión de un complejo de apo A-I recombinante y fosfolípidos en las lesiones coronarias de 57 pacientes con síndrome coronario agudo que recibieron semanalmente durante 5 semanas la perfusión intravenosa del complejo. La arteriosclerosis coronaria se estudió por ecografía, que se realizó antes y después de las 5 semanas de tratamiento⁴⁷. A pesar del escaso tiempo entre los estudios, la perfusión de la apo A-I produjo una reducción significa-

tiva del 4,2% en el volumen de las placas coronarias frente a una progresión del 0,14% en el grupo placebo⁴⁷.

Otras moléculas en desarrollo

Péptidos semejantes a apo A-I

Además de la apo A-I humana y la apo A-I Milano, varios péptidos recombinantes con estructuras semejantes a apo A-I se han estudiado en modelos animales con buenos resultados clínicos. Los más prometedores son los resultados obtenidos con el péptido D-4F, que es activo por vía oral y que ha demostrado reducir la arteriosclerosis sin modificar las concentraciones de cHDL, con la mejora de la actividad antioxidante y antiinflamatoria del plasma⁴⁸.

Activadores LXR

Los LXR son receptores nucleares activados por oxisteroles que controlan la expresión de diferentes genes celulares importantes en el transporte reverso de colesterol, muy especialmente los genes *ABCA1*, *ABCG1* y *ABCG4*⁴⁹. Se han estudiado varios ligandos con actividad activadora de LXR como el compuesto GW3965 (GlaxoSmithKline), que ha demostrado inhibir la arteriosclerosis pero que, al mismo tiempo, también favorece el desarrollo de hígado graso por la inducción, vía LXR, de la síntesis de ácidos grasos hepáticos⁵⁰. El potencial desarrollo de agonistas más específicos de la isoforma de LXR β que aumenta el transporte reverso de colesterol sin modificar la lipogénesis pueden tener un muy importante papel clínico en el futuro.

Activadores FXR

El FXR es otro factor nuclear activado por ácidos biliares que modifica la expresión de genes relacionados con la eliminación de colesterol por la bilis. El ratón manipulado genéticamente sin el gen *FXR* desarrolla precozmente arteriosclerosis con disminución de la actividad hepática de SR-B1⁵¹. Se están desarrollando activadores de esta vía metabólica aunque todavía no se dispone de resultados sobre su efecto vascular.

Comentarios finales

La partícula de HDL ha demostrado ser el mejor predictor lipídico de nuevos episodios cardiovasculares en la mayor parte de estudios prospectivos, tanto en varones como en mujeres⁴⁹. Sin embargo, el beneficio de la intervención sobre las concentraciones de cHDL no ha sido tan claro como el obtenido con los descensos de cLDL. Ello, muy posiblemente, se debe al complejo metabolismo de las

HDL, cuya manipulación puede tener muy diferente significado que dependerá del tipo de partícula de HDL que se modifique en plasma. El transporte reverso de colesterol parece ser uno de los mecanismos más importantes del papel antiaterogénico de las HDL. Sin embargo, del total del cHDL plasmático, la cantidad de colesterol que procede de los tejidos periféricos es muy pequeña, lo que probablemente indica que en el futuro se deberá medir el transporte reverso más que la cantidad de cHDL para poder comprobar qué fármacos modifican sustancialmente el transporte reverso de colesterol.

La arteriosclerosis es un proceso multifactorial en su origen, por lo que, probablemente, el tratamiento que logre hacerla desaparecer en el futuro será la intervención multifactorial. La manipulación farmacológica de las HDL parece una herramienta de enorme potencial en este propósito. Se empieza a disponer de fármacos muy atractivos que actúan a este nivel, pero serán los estudios clínicos de morbimortalidad cardiovascular, que no se disponen todavía, los que tengan que poner en su sitio a este grupo de fármacos.

Bibliografía

1. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunnigake DB, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004;110:227-39.
2. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al; Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005;366:1267-78.
3. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, et al; Treating to New Targets (TNT) Investigators. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1425-35.
4. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al; Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2004;350:1495-504.
5. Brown MS, Goldstein JL. Heart attacks: gone with the century? *Science*. 1996;272:629.
6. Toth PP. High-density lipoprotein as a therapeutic target: clinical evidence and treatment strategies. *Am J Cardiol*. 2005;96 Suppl:50K-8K.
7. Shai I, Rimm EB, Hankinson SE, Curhan G, Manson JE, Rifai N, et al. Multivariate assessment of lipid parameters as predictors of coronary heart disease among postmenopausal women: potential implications for clinical guidelines. *Circulation*. 2004;110:2824-30.
8. Aguilar-Salinas CA, Barrett H, Schonfeld G. Metabolic modes of action of the statins in the hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis*. 1998;141:203-7.
9. Crouse JR 3rd, Frohlich J, Ose L, Mercuri M, Tobert JA. Effects of high doses of simvastatin and atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I. *Am J Cardiol*. 1999;83:1476-7.
10. Jones PH, Davidson MH, Stein EA, Bays HE, McKenney JM, Miller E, et al; STELLAR Study Group. Comparison of the efficacy

- and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR Trial). *Am J Cardiol.* 2003;15:92:152-60.
11. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, et al. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apo A-I. *J Clin Invest.* 2001;107:1423-32.
 12. Robinson JG, Smith B, Maheshwari N, Schrott H. Pleiotropic effects of statins: benefit beyond cholesterol reduction? A meta-regression analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:1855-62.
 13. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002;360:7-22.
 14. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, et al; CARDS investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004;364:685-96.
 15. Knopp RH, Gitter H, Truitt T, et al. Effects of ezetimibe, a new cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J.* 2003;8:729-41.
 16. Davidson MH, McGarry T, Bettis R, et al. Ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:2125-34.
 17. Farnier M, Freeman MW, Macdonell G, Perevozskaya I, Davies MJ, Mitchel YB, et al; the Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of the coadministration of ezetimibe with fenofibrate in patients with mixed hyperlipidaemia. *Eur Heart J.* 2005;26:897-905.
 18. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106:3143-421.
 19. Davidson MH, Toth PP. Comparative effects of lipid-lowering therapies. *Prog Cardiovasc Dis.* 2004;47:73-104.
 20. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.* 1999;341:410-8.
 21. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1987;317:1237-45.
 22. BIP Study group. Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. *Circulation.* 2000;102:21-7.
 23. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al; FIELD study investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;366:1849-61.
 24. McKenney J. New perspectives on the use of niacin in the treatment of lipid disorders. *Arch Intern Med.* 2004;164:697-705.
 25. Sakai T, Kamanna VS, Kashyap. Niacin, but not gemfibrozil, selectively increases LP-AI, a cardioprotective subfraction of HDL, in patients with low HDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1783-9.
 26. The Coronary Drug Project Research Group. Clofibrate and niacin in coronary heart disease. *JAMA.* 1975;231:360-81.
 27. Carlsson LA, Rosenhamer G. Reduction of mortality in the Stockholm Ischaemic Heart Disease Secondary Prevention Study by combined treatment with clofibrate and nicotinic acid. *Acta Med Scand.* 1988;223:405-18.
 28. Cashin-Hemphill L, Mack WJ, Pogada JM, et al. Beneficial effects of colestipol-niacin on coronary atherosclerosis: A 4-yr follow-up. *JAMA.* 1990;264:3013-37.
 29. Brown G, Albers JJ, Fisher LD, et al. Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med.* 1990;323:1289-98.
 30. Brown BG, Zhao XQ, Chait A, et al. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med.* 2001;345:1583-92.
 31. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 2004;351:1106-18.
 32. Sakamoto J, Kimura H, Moriyama S, Odaka H, Momose Y, Sugiyama Y, et al. Activation of human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) subtypes by pioglitazone. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;278:704-11.
 33. Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, et al. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2005;366:1279-89.
 34. Yki-Jarvinen H. The PROactive study: some answers, many questions. *Lancet.* 2005;366:1241-2.
 35. Cota D, Marsicano G, Tschop M, Grubler Y, Flachskamm C, Schubert M, et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest.* 2003;112:423-31.
 36. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S; RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet.* 2005;365:1389-97.
 37. Despres JP, Golay A, Sjostrom L; Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med.* 2005;353:2121-34.
 38. Carai MA, Colombo G, Gessa GL. Rimonabant: the first therapeutically relevant cannabinoid antagonist. *Life Sci.* 2005;77:2339-50.
 39. Stein O, Stein Y. Lipid transfer proteins (LTP) and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2005;178:217-30.
 40. Curb JD, Abbott RD, Rodríguez BL, et al. A prospective study of HDL-C and cholesteryl ester transfer protein gene mutations and the risk of coronary heart disease in the elderly. *J Lipid Res.* 2004;45:948-53.
 41. Brewer HB Jr. Increasing HDL cholesterol levels. *N Engl J Med.* 2004;350:1491-4.
 42. Barter PJ, Brewer HB Jr, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:160-7.
 43. Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, et al. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med.* 2004;350:1505-15.
 44. Sirtori CR, Calabresi L, Franceschini G, Baldassarre D, Amato M, Johansson J, et al. Cardiovascular status of carriers of the apolipoprotein A-I (Milano) mutant: the Limone sul Garda study. *Circulation.* 2001;103:1949-54.
 45. Shah PK, Yano J, Reyes O, Chyu KY, Kaul S, Bisgaier CL, et al. High-dose recombinant apolipoprotein A-I (milano) mobilizes tissue cholesterol and rapidly reduces plaque lipid and macrophage content in apolipoprotein e-deficient mice. Potential implications for acute plaque stabilization. *Circulation.* 2001;103:3047-50.
 46. Chiesa G, Monteggia E, Marchesi M, Lorenzon P, Laucello M, Lorusso V, et al. Recombinant apolipoprotein A-I (Milano) infusion into rabbit carotid artery rapidly removes lipid from fatty streaks. *Circ Res.* 2002;90:974-80.
 47. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Cooper CJ, Yasin M, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2003;290:2292-300.
 48. Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S, Garber DW, Chaddha M, Hough G, et al. Oral administration of an Apo A-I mimetic Peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. *Circulation.* 2002;105:290-2.
 49. Linsel-Nitschke P, Tall AR. HDL as a target in the treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4:193-205.
 50. Joseph SB, McKilligin E, Pei L, Watson MA, Collins AR, Laffitte BA, et al. Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:7604-9.
 51. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, González FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell.* 2000;102:731-44.

Evaluación de la aterosclerosis en la práctica clínica a través de la medida del grosor íntima-media carotídeo

F. Civeira, E. Jarauta y E. Meriño-Ibarra

Unidad de Lípidos. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La prevención de las enfermedades cardiovasculares es uno de los importantes retos socio-sanitarios de nuestra sociedad en la actualidad, ya que constituyen la principal causa de muerte y discapacidad en nuestro país y en la mayor parte de países de nuestro entorno¹.

A pesar de los enormes avances en el conocimiento de las bases etiopatogénicas de la aterosclerosis, así como en su diagnóstico y en el tratamiento de los principales factores que contribuyen a ella, todavía estamos lejos de prevenirla en un porcentaje muy elevado de casos.

Desde la introducción de los conceptos de factor de riesgo y valoración de riesgo cardiovascular introducidos por el estudio del corazón de Framingham, la prevención cardiovascular está basada principalmente en la identificación de factores de riesgo «clásicos»: hipertensión arterial, tabaquismo, hipercolesterolemia y diabetes mellitus. Estos factores explican una buena parte de la enfermedad cardiovascular prematura, pero pierden capacidad de predicción en personas mayores de 65 años, precisamente donde la enfermedad aterosclerosa es más prevalente. Además, el riesgo atribuible a los diferentes factores de riesgo clásico presenta grandes variaciones interterritoriales e interindividuales por razones no totalmente establecidas, tanto genéticas como ambientales. Por todo ello, ha surgido en los últimos años el concepto de factores de riesgo «emergentes», expresión del esfuerzo de la comunidad científica en mejorar la predicción cardiovascular en el ámbito individual². Entre los factores de riesgo emergentes destaca la medición del grosor del complejo íntima-media de la arteria carótida (GIM) o IMT del inglés «*intima-media thickness*», como parámetro relacionado con la aterosclerosis preclínica que ha demostrado su relación con los factores de riesgo clásicos y la enfermedad cardiovascular, y su capacidad de predicción independiente de eventos cardiovasculares, por lo que en la actualidad es la única

prueba de imagen no invasiva recomendada por la American Heart Association (AHA) en la evaluación del riesgo cardiovascular³.

La medición del GIM carotídeo se basa en que la aterosclerosis es una enfermedad difusa del árbol arterial y que la carótida extracraneal, especialmente carótida común (CC) y carótida interna (CI), es un territorio accesible y representativo de las arterias donde asienta la aterosclerosis.

GROSOR ÍNTIMA-MEDIA

Cuando hablamos del GIM nos referimos al complejo que forman las capas íntima y media de la carótida que puede medirse fácilmente por ecografía por el espacio entre las interfases que forman la luz arterial y la íntima por la parte interna y capa media y adventicia por la parte externa (fig. 1). La medición del GIM como parámetro indicativo del grado de aterosclerosis arterial fue utilizada por primera vez por Pignoli et al hace 20 años⁴. Ellos demostraron que existe una buena correlación entre el GIM histológico y ecográfico a nivel aórtico y carotídeo, y propusieron la técnica como una buena herramienta para la medición de la aterosclerosis *in vivo*. Desde entonces múltiples trabajos han confirmado dicha observación inicial⁵⁻⁷. El concepto importante de la medición del GIM es que el engrosamiento de la pared de la carótida se corresponde con una fase precoz de la aterosclerosis y por ello puede ser utilizado para ver la carga de aterosclerosis de un individuo. El aumento del GIM puede ser debido a un engrosamiento de la íntima, de la media o de ambas. En una arteria de mediano calibre normal el tamaño de la media es mayor que el de la capa íntima, por lo que en el GIM representa preferentemente la capa media, muy especialmente si la arteria es muscular como las arterias femorales. Sin embargo, en las fases precoces de la aterosclerosis se produce preferentemente un engrosamiento subintimal y la afectación macroscópica de la media es más posterior. Las carótidas son arterias elásticas o de conducción, como la aorta o subclavias, cuya pared es relativamente delgada en proporción con su diámetro y su capa media contiene sobre todo fibras elásticas y menor proporción músculo liso, en contraste con las arterias musculares o de distribución, como branquial, radial, o femorales cuya capa media contiene muchas más fibras de músculo liso que elás-

Correspondencia: F. Civeira.
Servicio de Medicina Interna.
Hospital Universitario Miguel Servet.
Avda. Isabel La Católica, 1-3.
50009 Zaragoza.
Correo electrónico: civeira@unizar.es

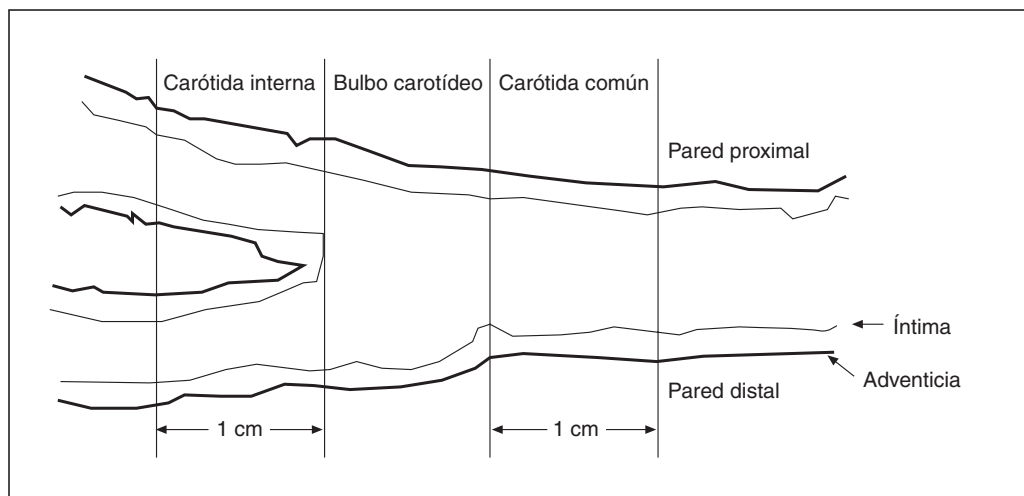


Fig. 1. Esquema de los segmentos carotídeos estudiados en el examen ecográfico.

tico y son capaces de vasodilatación y vasoconstricción mayor, para ajustar el volumen de sangre a las necesidades de la estructura que irrigan. Por este motivo, al ser las carótidas unas arterias elásticas con escasas fibras musculares, el GIM carotídeo expresa predominantemente el engrosamiento subintimal^{8,9}.

El espacio subintimal, componente importante en el GIM carotídeo, tiende a aumentar con la edad, especialmente en las zonas de mayor estrés hemodinámico como la bifurcaciones. Este engrosamiento se debe preferentemente a un aumento de tejido conectivo no ateroescleroso y explica que el GIM aumente con la edad aun en ausencia de factores de riesgo cardiovascular o de lesiones de arteriosclerosis en otros territorios vasculares. Por este motivo la medición del GIM debe ajustarse por edad y, probablemente, por cifras de presión arterial (PA) cuando sea utilizado como sustituto de ateroesclerosis. Sin embargo, cuando el GIM se encuentra por encima de ciertos límites, posiblemente por encima de 1 mm, entonces lo más probable es que esté reflejando cambios debidos a la ateroesclerosis⁹. Muy recientemente, Junyent et al han publicado un estudio con la distribución por edad y sexo de las medidas del GIM de CC en un grupo de 250 sujetos sanos que puede servir de referencia para estudios posteriores en nuestro medio¹⁰.

Como podemos comprobar, el GIM carotídeo no es un factor de riesgo en sí mismo, más bien nos informa de la repercusión vascular del conjunto de los factores de riesgo (conocidos y desconocidos) en un determinado individuo, lo que supone una información complementaria de gran valor clínico. Además, la medición ecográfica del GIM nos informa de la ateroesclerosis vascular en todas sus fases desde el engrosamiento focal subintimal a las diferentes fases de la ateroesclerosis incluidas las placas avanzadas. Incluso es capaz de identificar la composición de las placas debido a la diferente ecogenicidad del material lipídico, fibrótico o contenido en calcio de las lesiones. Esto supone una gran ventaja con respecto a otras técnicas como el doppler, la ergometría o la angiografía

que son útiles en fases avanzadas de la ateroesclerosis, ya que habitualmente son positivas cuando existe un compromiso en flujo arterial con estenosis superiores al 50%.

Técnica de la medición del grosor íntima-media

Para la medición del GIM carotídeo se utiliza un ecógrafo equipado con una sonda lineal de 5-10 MHz. La captación de imágenes se realiza con el sujeto en decúbito supino con una rotación de 45° del cuello en dirección opuesta a la carótida explorada. Es conveniente disponer de algún dispositivo donde el paciente apoye la cabeza para asegurar su posición correcta. El transductor se coloca longitudinalmente a la arteria carótida manteniendo en todo momento un ángulo de 90° con el cuello. Un registro electrocardiográfico simultáneo es conveniente para realizar las mediciones siempre en la misma fase del ciclo cardíaco, habitualmente coincidiendo con el complejo QRS, es decir en la telediástole, para evitar las pequeñas diferencias en el grosor de las paredes vasculares que se producen durante la sístole y diástole cardíacas que se han calculado en torno a las 8 μ, lo que corresponde aproximadamente al 1,3% del GIM. La exploración resulta indolora e incruenta y viene a durar entre 15-40 minutos en dependencia del protocolo utilizado, el número total de mediciones a realizar y sobre todo de la anatomía del sujeto. La exploración puede resultar muy complicada en sujetos con cuello corto y grueso, en aquellos que toleran mal el decúbito, con carótidas tortuosas o profundas, o en aquellos sujetos con anomalías esqueléticas cervicales o torácicas. A pesar de ello, imágenes de buena calidad para poder obtener mediciones fiables pueden lograrse en más del 95% de los sujetos, aunque con diferencias notables entre los segmentos a estudio. En el estudio de Róterdam, la visualización correcta de CC, bulbo y CI fue posible en el 97%, el 83% y el 56%, respectivamente, de los sujetos del estudio¹¹.

Mediciones del grosor íntima-media

No existe un protocolo universalmente aceptado para la medición del GIM carotídeo, lo que dificulta enormemente la comparación de resultados entre estudios. Por ello es imprescindible, con independencia del protocolo utilizado, la consistencia y reproducibilidad dentro de cada centro y estudio. Las mediciones pueden realizarse en diferentes zonas carotídeas y tanto en la pared proximal como distal; pueden expresarse como valores medios de GIM o como valores máximos que a su vez pueden incluir o no la medición de placas. Por tanto, a la hora de valorar un GIM carotídeo es importante conocer el protocolo para poder hacer una interpretación correcta de resultados.

Muchos estudios se han limitado al GIM de CC, debido a que es sencillo, rápido y es el segmento carotídeo más consistentemente reproducible y su medición puede hacerse de forma automatizada. Además, como hemos señalado anteriormente, esta determinación puede obtenerse en casi la totalidad de los sujetos. Sin embargo, limitar la exploración a la CC tiene inconvenientes, en ocasiones importantes ya que: a) las placas de aterosclerosis aparecen más frecuentemente en el bulbo carotídeo (BC) y CI que en CC, donde son raras; b) los factores de riesgo clásicos y el riesgo coronario se relacionan mejor con las lesiones de CI que con las de CC, y c) los estudios de intervención que han utilizado el GIM carotídeo como parámetro de valoración principal dieron resultados positivos cuando midieron CI, pero hubiesen sido negativos si se hubiesen limitado a la CC^{6,12}. Por este motivo la medición de BC y CI es conveniente aunque sea más difícil de visualizar, tenga mayor variabilidad y no sea posible en un porcentaje alto de sujetos.

El protocolo más frecuentemente utilizado en la actualidad incluye la medición en modo B del GIM en tres segmentos carotídeos en ambos lados coincidiendo con el complejo QRS del registro electrocardiográfico simultáneo. Dichos segmentos se corresponden con el centímetro distal de CC antes de la dilatación carotídea, el bulbo completo y un centímetro de CI desde la bifurcación (fig. 1). Aunque en algunos estudios se ha estudiado el GIM en las paredes proximal y distal, las mediciones de la pared proximal debido a condicionantes técnicos son menos fiables que las mediciones de la pared posterior. La medición de la pared anterior tiende a minusvalorar el grosor histológico real de la CC en torno a un 20%, cosa que no ocurre con la pared posterior con la que existe muy buena correlación entre los datos ecográficos e histológicos¹³. Por este motivo las mediciones de la pared posterior son las que se consideran más adecuadas en la mayor parte de estudios en la actualidad. Las mediciones incluyen la medida del GIM máxima en cada uno de los 6 segmentos, la media de las GIM máximas, las medias de GIM en cada segmento que se obtienen bien de forma automática o de la medición en 3 o 4 puntos equidistantes en todos los segmentos, obteniéndose el GIM medio de cada segmento y el GIM medio del sujeto. La posibilidad de

realizar varias mediciones independientes aumenta la consistencia del método. No todos los estudios han utilizado las mismas mediciones y aunque existe buena correlación entre ellas, el GIM máximo parece ser la medición con mayor poder predictivo cardiovascular.

Junto a la medición del GIM, la exploración permite la identificación de placas. Se han utilizado varios criterios en la definición de placas: a) engrosamientos de la pared superiores al 50% de los segmentos adyacentes¹⁴; b) engrosamientos focales $\geq 1,2$ mm¹⁰; c) engrosamientos focales con protrusión > 1 mm en la luz carotídea¹⁵, y 4) en muchos casos la definición de placa se ha basado en la presencia de engrosamientos focales que protruyen en la luz a juicio del investigador sin mediciones concretas en su definición¹⁶.

Relación del grosor íntima-media con los factores de riesgo cardiovascular

El GIM carotídeo medio y máximo está asociado con los diferentes factores de riesgo clásico que incluyen: edad, PA sistólica y diastólica, diabetes, consumo de cigarrillos, concentración de colesterol total, triglicéridos y colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (c-HDL)¹⁷. En el estudio Suita de Japón, los factores significativamente relacionados con el GIM en los hombres fueron: edad, PA sistólica, colesterol total, c-HDL, número de cigarrillos y glucemia, explicando el 34,4% de la variabilidad del GIM medio. El GIM máximo se relacionó especialmente con la edad, la PA sistólica y la glucemia, y la presencia de placas carotídeas con la edad, PA sistólica, colesterol total, c-HDL y número de cigarrillos. En las mujeres, el GIM medio se relacionó especialmente con la edad, PA sistólica, colesterol total y número de cigarrillos. Así pues, todos los factores clásicos mostraron una fuerte asociación en ambos sexos, pero la edad fue la más fuertemente asociada a todos los índices de aterosclerosis estudiados¹⁸. Edad, hipertensión arterial y diabetes también fueron los factores de riesgo mejor asociados con el GIM medio y máximo en el *Cardiovascular Health Study*¹⁹.

En el estudio de Junyent en España, el GIM medio y máximo también se relacionó principalmente con la edad tanto en hombres como en mujeres. Las correlaciones del GIM también fueron positivas con el índice de masa corporal, PA sistólica y diastólica y concentración de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL). La presencia de placas, muy predominantemente en varones jóvenes, se relacionó con el hábito tabáquico¹⁰.

Grosor íntima-media en pacientes con aterosclerosis sintomática

El GIM carotídeo está aumentado en todas las formas de aterosclerosis con respecto a los sujetos control, lo que confirma que es habitualmente una enfermedad sistémica afectando a múltiples territorios vasculares. En el estudio *Atherosclerosis Risk in communities* (ARIC), donde se midió el GIM medio de los 6 seg-

mentos carotídeos principales en 13.870 sujetos con y sin enfermedad cardiovascular, el GIM fue un 10% superior en los sujetos con historia de enfermedad coronaria, un 6% superior en aquellos con historia de ictus y un 19% más grueso si el antecedente era de enfermedad vascular periférica. Las diferencias en el GIM se mantuvieron a pesar de ajustar por principales factores de riesgo²⁰. Datos muy semejantes se obtuvieron en el estudio Cardiovascular Health Study, donde, además, la historia de enfermedad coronaria se correlacionó mejor con el GIM máximo de CI, y la historia de ictus con el GIM de CC¹⁹. En el estudio de Róterdam, aquellos sujetos con un GIM $\geq 0,89$ mm tuvieron una incidencia de enfermedad arterial periférica hasta 3,4 veces superior a la de los sujetos con GIM $< 0,89$ mm²¹.

Así mismo, existe una buena relación entre GIM y las lesiones coronarias determinadas por angiografía. El GIM máximo, especialmente de CI, se relaciona mejor con las lesiones angiográficas coronarias y, más con las lesiones en segmentos coronarios medios y distales que en los proximales²². En un estudio reciente que ha correlacionado las lesiones coronarias y carotídeas, por ecografía intracoronaria (IVUS) y por ecografía carotídea transcutánea, se ha confirmado la excelente asociación entre ambos tipos de lesiones, especialmente cuando se utiliza el GIM carotídeo máximo²³.

El grosor íntima-media carotídeo como predictor de riesgo cardiovascular

Se han publicado múltiples estudios en los que de forma unánime el GIM carotídeo ha demostrado ser un buen predictor de nuevos eventos cardiovasculares.

El estudio Róterdam, realizado en 7.983 sujetos mayores de 55 años del barrio de Ommoord de Róterdam, estudió el poder predictivo de la medición del GIM en los 6 segmentos principales carotídeos en la aparición de nuevos cerebrovasculares y coronarios. En los primeros 2,7 años de seguimiento se produjeron un total de 98 nuevos infartos de miocardio y 95 ictus. Por cada incremento en 0,16 mm en el GIM de CC aumentó un 41% y un 43% el riesgo de ictus y el de infarto de miocardio, respectivamente, que se mantuvieron significativos después de ajustar por los principales factores de riesgo²⁴.

El estudio ARIC examinó el GIM a 15.792 sujetos entre 45 y 64 años de edad de cuatro ciudades de EE.UU. que fueron seguidos durante entre 3 y 9 años. Los resultados fueron muy semejantes a los del estudio de Róterdam, ya que por cada incremento de 0,2 mm en el GIM medio de CC se asoció con un riesgo del 28% y del 33% mayor de ictus y de infarto de miocardio¹⁷.

El estudio de Salud Cardiovascular (*Cardiovascular Health Study*) incluyó a 5.888 sujetos mayores de 65 años que fueron examinados entre 1989 y 1993 y que han sido seguidos desde entonces. Al inicio de seguimiento un 31% de los participantes había tenido enfermedad cardiovascular sintomática. A los 6,2 años de seguimiento los sujetos en el quintil más alto

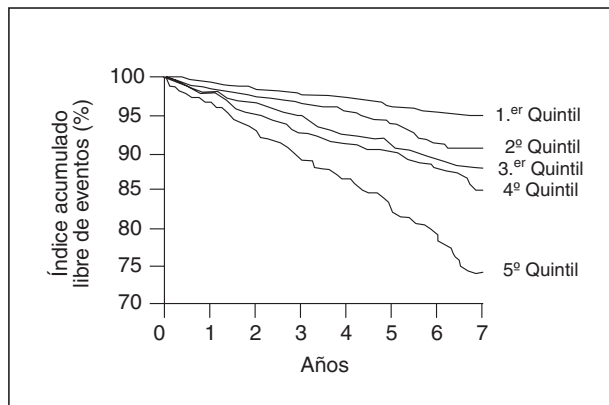


Fig. 2. Índice acumulado del tiempo libre de eventos (ictus e infarto de miocardio) de acuerdo al quintil basal de grosor íntima-media en estudio de Salud Cardiovascular. Modificada de O'Leary DH et al²⁵.

de GIM máximo medio tuvieron un riesgo, ajustado por edad y sexo, 3,87 veces superior que los sujetos en el quintil más bajo (fig. 2). Cada incremento en 0,2 mm en el GIM de CC y CI, ajustado por edad y sexo, se asoció a un incremento de eventos cardiovasculares del 33% y del 46%, respectivamente²⁵. En una publicación reciente del mismo estudio después de un seguimiento medio de 10 años se continuó demostrando de forma clara que el aumento en el GIM se asocia de forma independiente con el riesgo de padecer un evento coronario o cerebrovascular, especialmente en sujetos con diabetes e hipertensión arterial²⁶. El valor predictivo de enfermedad cardiovascular del GIM en la diabetes también ha sido confirmado en un estudio más reducido de 229 pacientes con diabetes tipo 2 seguidos durante 5 años, con un valor semejante a la predicción basada en el estudio Framingham y mejorando al combinar ambos parámetros²⁷.

Factores asociados a la progresión del grosor íntima-media

Este aspecto del estudio del GIM ha sido analizado por el estudio de Progresión de la Aterosclerosis Carotídea en el que a 3.383 sujetos de una comunidad en Alemania se les practicó una medición del GIM en dos momentos diferentes separados tres años. Al inicio del estudio se analizaron los diferentes factores de riesgo clásicos, pero no se hizo una intervención específica. La intensidad de la progresión del GIM es muy variable en dependencia del segmento carotídeo analizado. En un periodo de tres años la progresión en CI fue muy superior a la encontrada en el BC o CC (fig. 3), que a su vez se relacionó mucho mejor con los factores de riesgo clásicos²⁸. Sin embargo, la progresión de CC no se relacionó con los factores de riesgo al inicio. Esto mismo ocurrió en el estudio de Salud Cardiovascular²⁹. Otro hallazgo interesante es que el impacto de los factores de riesgo sobre el GIM basal fue entre 2 y 3 veces mayor que con los cambios evolutivos en el GIM, lo que sugiere que el GIM

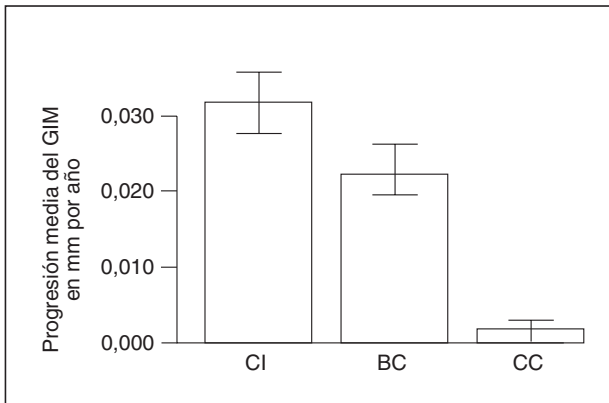


Fig. 3. Progresión media del grosor íntima-media (GIM) en relación con el segmento carotídeo. Modificada de Mackinnon AD et al²⁸. CI: carótida interna; BC: bulbo carotídeo; CC: carótida común.

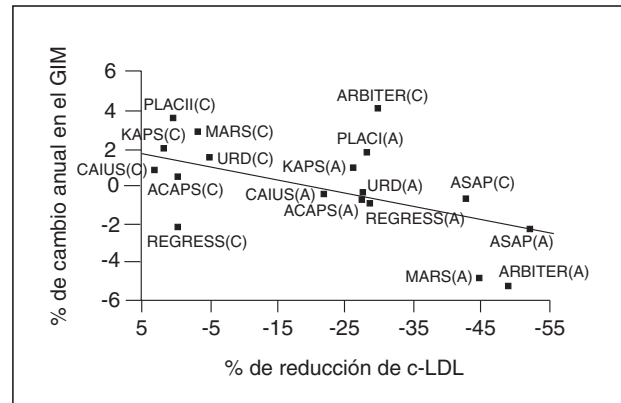


Fig. 4. Relación entre la reducción del colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) y el cambio en el grosor íntima-media (GIM). Modificada de Amarencu P et al³⁰.

nos informa muy especialmente de la carga de los factores de riesgo a lo largo de espacios de tiempo muy largos. En el plazo de los tres años del estudio los factores de mayor impacto en la progresión de CI fueron: edad, sexo masculino, hipertensión arterial y diabetes, muy probablemente porque en su mayoría son no modificables.

El grosor íntima-media como marcador sustituto de aterosclerosis

Al menos 9 ensayos clínicos han utilizado el GIM como marcador sustituto de enfermedad cardiovascular y un metaanálisis ha demostrado que puede ser considerado un buen marcador de la eficacia de un determinado tratamiento frente a la aterosclerosis, muy especialmente con fármacos hipolipemiantes, y que existe una buena correlación entre cambios en c-LDL y de GIM³⁰, especialmente con los cambios en el GIM de CI y BC¹². Como puede observarse en la figura 4 la correlación entre reducción de c-LDL y GIM es importante ($r = 0,55$, $p = 0,004$). Cada 10% de reducción en la concentración de c-LDL se acompaña de una reducción anual del GIM del 0,73% (intervalo de confianza entre el 0,27-1,19%).

El GIM carotídeo cumple todos los criterios de marcador sustituto: es fácil de evaluar, no agresivo, precede en el tiempo a la enfermedad que sustituye, tiene una buena relación cuantitativa y cualitativa con la aterosclerosis basada en los factores de riesgo de la enfermedad, y sus cambios parecen ser equivalentes en riesgo y beneficio a los acontecimientos clínicos³¹.

Importancia de la presencia de placas carotídeas

Ya hemos comentado anteriormente que la definición de placa y su búsqueda ha sido mal definida en la mayor parte de estudios, por lo que en muchos de ellos no ha sido evaluada. En el estudio del Pronóstico de la Angina de Estocolmo (*Angina Prognosis Study in Stockholm* [APSIS]) se evaluó el efecto de verapamil

o metoprolol en pacientes con angina estable durante tres años. Al inicio del estudio a 540 de los 809 pacientes incluidos se les realizó una ecografía carotídea que incluyó el GIM de CC y la presencia de placas en CC, definidas por engrosamientos localizados de la pared con protrusión en la luz. La presencia de placas carotídeas fue dos veces superior en los pacientes que tuvieron un evento cardiovascular durante la evolución con respecto a los que no lo tuvieron (fig. 5). El GIM de CC no fue predictor de eventos, sin embargo, los sujetos con placas en CC presentaron un riesgo relativo 2,73 (1,83, después de ajustar por los principales factores de riesgo) veces superior de eventos que los sujetos que no presentaron eventos³². En el estudio de Salud Cardiovascular comentado anteriormente, a un subgrupo de 3.502 sujetos se le realizó, junto a la ecografía carotídea, una resonancia magnética nuclear (RMN) cerebral para estudiar la relación entre los hallazgos de ambas exploraciones. La presencia de lesiones isquémicas en la RMN estuvieron intensamente asociadas con la presencia de placas carotídeas y en menor grado con su composición

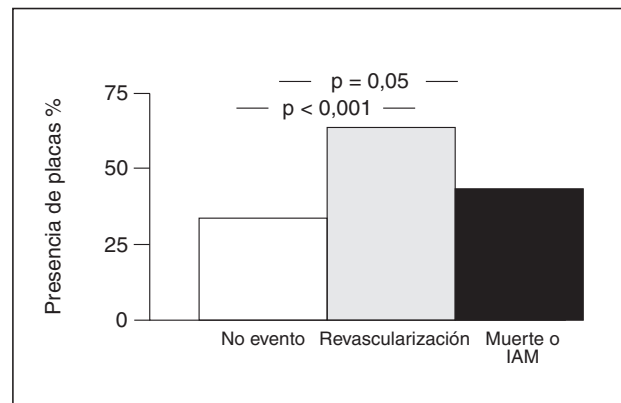


Fig. 5. Porcentaje de presencia de placas en arteria carotídea y riesgo de revascularización o evento cardiovascular (muerte cardiovascular o infarto no mortal en el estudio APSIS). Modificada de Held C et al³². IAM: infarto agudo de miocardio.

después de ajustar por estenosis³³.

CONCLUSIONES

La detección de aterosclerosis preclínica a través de la medición del GIM carotídeo y de placas ha demostrado ser una herramienta de enorme utilidad en la valoración del riesgo cardiovascular al ser resultado de la carga de factores de riesgo de un individuo a lo largo de su vida. Múltiples estudios han demostrado que el GIM se asocia con los principales factores de riesgo, con la presencia de enfermedad cardiovascular en cualquier territorio y, lo que es más importante, se comporta como un excelente predictor de nuevos eventos cardiovasculares a corto plazo. El GIM máximo en la CI parece ser la medición con mayor capacidad de predicción de nuevos eventos³⁴.

En los últimos años el GIM carotídeo se viene utilizando como marcador sustituto de la aterosclerosis en la evaluación del tratamiento de la aterosclerosis, especialmente de los fármacos hipolipemiantes, con muy buenos resultados. Sin embargo, debido a que los cambios en el GIM en el tiempo son pequeños, su utilización en la monitorización de la eficacia de un determinado tratamiento está, por el momento, reservada únicamente a ensayos clínicos controlados y no tiene utilidad en la práctica clínica.

En el momento presente la medición del GIM puede ser útil para identificar a individuos con un riesgo cardiovascular alto no detectado por otros procedimientos de valoración basados en los factores de riesgo clásicos. En este grupo estarían sujetos mayores de 45 años con riesgo intermedio calculado por las diferentes tablas, o en aquellos con un factor de riesgo extremo, como son la hipercolesterolemia familiar, la hipertensión arterial grave o el tabaquismo importante³⁵. La presencia de aterosclerosis preclínica en estos sujetos debería llevar asociada una actitud terapéutica más agresiva. La posición contraria, es decir, reducir la intensidad de la intervención en sujetos con riesgo calculado por tablas alto pero GIM normales no parece recomendable, ya que la especificidad del GIM no es lo suficientemente alta como para justificar dicha actitud³⁶.

BIBLIOGRAFÍA

- Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Graciani A, Villar F, Herruzo R. Mortality attributable to cardiovascular risk factors in Spain. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57 Suppl 1:S18-21.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
- Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, et al. Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation*. 2000;101:E16-22.
- Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74:1399-406.
- Poli A, Tremoli E, Colombo A, Sirtori M, Pignoli P, Paoletti R. Ultrasonographic measurement of the common carotid artery wall thickness in hypercholesterolemic patients. A new model for the quantitation and follow-up of preclinical atherosclerosis in living human subjects. *Atherosclerosis*. 1988;70:253-61.
- O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis

- imaging and event prediction. *Am J Cardiol*. 2002;90 Suppl:18L-21L.
- De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109 Suppl:III 33-8.
- Van Bortel LM. What does intima-media thickness tell us? *J Hypertens*. 2005;23:37-9.
- Sinha AK, Eigenbrodt M, Mehta JL. Does carotid intima media thickness indicate coronary atherosclerosis? *Curr Opin Cardiol*. 2002;17:526-308.
- Junyent M, Gilibert R, Nuñez I, Corbella E, Vela M, Zambon D, et al. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:770-4.
- Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JC. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction; The Rotterdam Study. *Eur Heart J*. 2002;23:934-40.
- Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001;357:577-81.
- Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness. *Arterioscler Thromb*. 1993;13:482-6.
- Hollander M, Bots ML, Del Sol AI, Koudstaal PJ, Witteman JC, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: the Rotterdam study. *Circulation*. 2002;105:2872-7.
- Touboul PJ, Labreuche J, Vicaud E, Amarenco P; GENIC Investigators. Carotid intima-media thickness, plaques, and Framingham risk score as independent determinants of stroke risk. *Stroke*. 2005;36:1741-5.
- Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432-7.
- Chambless LE, Folsom AR, Davis V, Sharrett R, Heiss G, Sorlie P, et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987-1998. *Am J Epidemiol*. 2002;155:38-47.
- Mannami T, Konishi M, Baba S, Nishi N, Terao A. Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city: the Suita study. *Stroke*. 1997;28:518-25.
- O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Kittner SJ, Bond MG, Wolfson SK Jr, et al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. *Stroke*. 1992;23:1752-60.
- Burke GL, Evans GW, Riley WA, Sharrett AR, Howard G, Barnes RW, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke*. 1995;26:386-91.
- Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and lower extremity arterial atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1885-91.
- Graner M, Varpula M, Kahri J, Salonen RM, Nyyssonen K, Nieminen MS, et al. Association of carotid intima-media thickness with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2006;97:624-9.
- Ogata T, Yasaka M, Yamagishi M, Seguchi O, Nagatsuka K, Minematsu K. Atherosclerosis found on carotid ultrasonography is associated with atherosclerosis on coronary intravascular ultrasonography. *J Ultrasound Med*. 2005;24:469-74.
- Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432-7.
- O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.
- Kuller LH, Arnold AM, Psaty BM, Robbins JA, O'Leary DH, Tracy RP, et al. 10-year follow-up of subclinical cardiovascular disease and risk of coronary heart disease in the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med*. 2006;166:71-8.
- Bernard S, Serusclat A, Targe F, Charriere S, Roth O, Beaune J, et al. Incremental predictive value of carotid ultrasonography in the assessment of coronary risk in a cohort of asymptomatic type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2005;28:1158-62.
- Mackinnon AD, Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Buehler A, von Kegler S, Markus HS. Rates and determinants of site-specific progression of carotid artery intima-media thickness: the carotid atherosclerosis progression study. *Stroke*. 2004;35:2150-4.
- Yanez ND 3rd, Kronmal RA, Shemanski LR, Psaty BM; Cardiovascular Health Study. A regression model for longitudinal change in the presence of measurement error. *Ann Epidemiol*. 2002;12:34-8.
- Amarenco P, Labreuche J, Lavalley P, Touboul PJ. Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke*. 2004;35:2902-9.
- Espeland MA, O'leary DH, Terry JG, Morgan T, Evans G, Mudra H. Carotid intimal-media thickness as a surrogate for cardiovascular disease events in trials of HMG-CoA reductase inhibitors. *Curr Control Trials Cardiovasc Med*. 2005;6:3.
- Held C, Hjelm Dahl P, Eriksson SV, Bjorkander I, Forslund L, Rehnqvist

- N. Prognostic implications of intima-media thickness and plaques in the carotid and femoral arteries in patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J*. 2001;22:62-72.
33. Manolio TA, Burke GL, O'Leary DH, Evans G, Beauchamp N, Knepper L, et al. Relationships of cerebral MRI findings to ultrasonographic carotid atherosclerosis in older adults : the Cardiovascular Health Study. CHS Collaborative Research Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19:356-65.
34. Bots ML, Grobbee DE. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2002;16:341-51.
35. Civeira F; International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:55-68.
36. Sankatsing RR, de Groot E, Jukema JW, de Feyter PJ, Pennell DJ, Schoenhagen P, et al. Surrogate markers for atherosclerotic disease. *Curr Opin Lipidol*. 2005;16:434-41.

Sensibilidad y especificidad de los criterios del síndrome metabólico para el diagnóstico de insulinoresistencia en la población española



Erardo Meriño-Ibarra^{a,b}, Ana Cenarro^a, Paula Martín^a, Ángel Luis García-Otín^a, Jesús Goicoechea^c, Ana Guallar^d, Luisa Calvo^e y Fernando Civeira^{a,b}

^aLaboratorio de Investigación Molecular. ^bServicios de Medicina Interna. ^cPrevención de Riesgos Laborales. ^dMedicina Nuclear. ^eBioquímica. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.

FUNDAMENTO Y OBJETIVO: El síndrome metabólico (SM) es un trastorno relacionado con obesidad abdominal e insulinoresistencia (IR) y con un elevado riesgo cardiovascular. Recientemente, la International Diabetes Federation (IDF) ha propuesto una modificación de los criterios diagnósticos tradicionales del SM del Adult Treatment Panel III (ATP III). Sin embargo, la sensibilidad de estos nuevos criterios no se ha establecido. Los objetivos del estudio fueron definir sensibilidad y especificidad de los diferentes criterios del SM en nuestra población.

SUJETOS Y MÉTODO: Se estudió en 177 voluntarios adultos sanos (68 varones y 109 mujeres): el índice de masa corporal (IMC), el perímetro de cintura (PC), la presión arterial y los valores de glucosa, insulina, lípidos y apolipoproteínas (apo) A1 y B. Como indicador de IR se utilizó el índice HOMA, considerando IR un índice HOMA $\geq 3,8$.

RESULTADOS: Los sujetos con IR tuvieron mayores edad, IMC, presión arterial sistólica, triglicéridos y apoB y menos colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Un PC ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres (criterio ATP III) mostró baja sensibilidad para IR (el 29,4 y el 44,7% respectivamente), con alta especificidad (el 81 y el 90%). Un PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres (criterio IDF) mostró buena sensibilidad (el 73,5 y el 73,7% respectivamente), pero menor especificidad (el 57,1 y el 53,3%). Los criterios IDF mostraron mejor sensibilidad que los ATP III, sin empeorar sustancialmente la especificidad, para el punto de corte de HOMA.

CONCLUSIONES: Los criterios del ATP III tienen baja sensibilidad en nuestra población. Los nuevos criterios, PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres y glucemia ≥ 100 mg/dl, mejoran 3 veces la sensibilidad diagnóstica de IR y, por tanto, parecen ser más útiles para detectar IR en nuestro medio.

Palabras clave: Síndrome metabólico. Resistencia a la insulina. HOMA. Perímetro de cintura. Diagnóstico.

Sensitivity and specificity of metabolic syndrome criteria for insulin resistance diagnosis in Spanish population

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Metabolic syndrome (MS) is an abdominal obesity and insulin resistance (IR)-related syndrome associated with a high cardiovascular risk. Recently, the International Diabetes Federation (IDF) has proposed a modification of the Adult Treatment Panel III (ATP III) diagnostic criteria. However, the sensitivity of these new criteria has not been established. The aim of the present study was to define the sensitivity and specificity of the different criteria used for the diagnosis of the MS in our population.

SUBJECTS AND METHOD: We studied in 177 healthy subjects, 68 men and 109 women, the body mass index, waist circumference (WC), blood pressure, glucose, insulin, lipids and apolipoproteins A1 and B. The HOMA index was used as an IR indicator. IR was considered with an HOMA index ≥ 3.8 .

RESULTS: Subjects with IR showed higher age, systolic blood pressure, triglycerides and apo B, and lower HDL cholesterol. A WC ≥ 102 cm in men and ≥ 88 cm in women (ATP III criteria) had a low sensitivity for IR (29.4% and 44.7% respectively), with high specificity (81% and 90%). A WC ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women (IDF criteria) showed good sensitivity (73.5% and 73.7% respectively) but less specificity (57.1% and 53.3%). The IDF criteria showed better sensitivity than ATP III, without substantial change in the specificity for the different HOMA cut-off points.

CONCLUSIONS: ATP III criteria had low sensitivity in our population. The new criteria (WC ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women, and blood glucose ≥ 100 mg/dL) improve three-fold the diagnostic sensitivity and, therefore, seems to be more useful for detecting IR in our country.

Key words: Metabolic syndrome. Insulin resistance. HOMA. Waist circumference. Diagnosis.

Trabajo financiado en parte por becas FIS 03/1106, RT/G03-181 y RT/C03-01.

Correspondencia: Dr. F. Civeira.
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Miguel Servet.
P.º Isabel la Católica, 1-3. 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: civeira@unizar.es

Recibido el 4-1-2006; aceptado para su publicación el 28-3-2006.

El síndrome metabólico (SM) es un trastorno complejo que se caracteriza por la presencia de un grupo de factores de riesgo cardiovascular que tienden a presentarse de forma conjunta y podrían tener una base etiopatogénica común íntimamente relacionada con la obesidad, muy especialmente con la acumulación abdominal de grasa¹. La importancia del SM radica en su elevada y creciente prevalencia en los países occidentales² que confiere a los pacientes que lo presentan un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y de posterior desarrollo de diabetes mellitus (DM)³. Por todo ello, el SM es uno de los principales problemas de salud en la mayor parte de los países desarrollados, incluida España³.

Aunque se conocía desde hacía décadas que diferentes factores de riesgo como la DM, la hipertensión arterial (HTA) o la dislipemia se presentaban de forma conjunta con una frecuencia superior a la esperada⁴, no fue hasta 1988 cuando Reaven⁵ sistematizó el cuadro metabólico, definió sus componentes y adelantó su mecanismo fisiopatológico fundamental, la resistencia periférica a la insulina asociada con la obesidad.

Sin embargo, no ha sido hasta el año 2001 cuando el conocido grupo de profesionales de Estados Unidos denominado US National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III (ATP III) estableció una denominación única, unos criterios clínicos sencillos para su diagnóstico, subrayó la importancia del SM como factor de riesgo cardiovascular y del tratamiento de sus componentes⁶. Aunque existen otros criterios diagnósticos del SM⁷⁻⁹, incluso anteriores a los criterios del ATP III, son bastante concordantes con éstos pero mucho menos utilizados en la actualidad.

A partir del informe del ATP III, el interés clínico y científico del SM viene creciendo de forma exponencial en los últimos años y, aunque con reticencias sobre la

conveniencia de su existencia como entidad clínica diferenciada¹⁰, una gran parte de la comunidad científica ve el SM como una buena fórmula para identificar y tratar a sujetos en elevado riesgo cardiovascular¹¹. Muy recientemente la International Diabetes Federation (IDF) ha propuesto una modificación de los criterios iniciales del ATP III con tres cambios: a) definir como condición esencial la obesidad central; b) establecer puntos de corte diferentes del perímetro de cintura (PC) de acuerdo con el origen étnico de la población donde se aplique, y c) reducir la cifra de glucemia de ≥ 110 mg/dl a ≥ 100 mg/dl. En nuestro medio, mayoritariamente de origen europeo, proponen como criterios para el SM un PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres¹². Sin embargo, la sensibilidad y la especificidad de estos nuevos criterios no se ha establecido.

Los objetivos del presente estudio son definir sensibilidad y especificidad de los criterios diagnósticos del SM según los criterios propuestos por la IDF con respecto a los previos del ATP III y, en su caso, proponer nuevos valores de PC ajustados a nuestra población.

Sujetos y método

Sujetos

Se estudiaron a 177 voluntarios, 68 varones y 109 mujeres, a quienes se realizó una evaluación médica sistemática en su centro de trabajo. Los criterios de exclusión fueron: sujetos menores de 25 años y mayores de 65 años, consumo excesivo de alcohol (> 30 g/día), enfermedad aguda en curso o uso actual de fármacos que modifiquen el metabolismo lipídico o glucídico (p. ej., fármacos antidiabéticos, antihiperlipemiantes y de tratamiento hormonal sustitutivo). Todos los sujetos firmaron un consentimiento informado y el comité de investigación del hospital aprobó el protocolo del estudio. Además, se cumplieron las normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en octubre del año 2000. Las medidas antropométricas incluyeron: edad, sexo, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), PC y presión arterial. Todas las medidas se realizaron con los sujetos llevando ropa hospitalaria, con mínima ropa interior y sin zapatos. Para el peso se utilizó una balanza calibrada con una escala de 0,1 kg, y la talla se midió con un tallímetro montado en la pared con una escala de 1 mm. El PC se midió con una cinta milimetrada e inelástica (Gulick II, Country Technology, Inc.). La cinta milimetrada se colocó directamente sobre la piel del sujeto mientras éste estaba de pie, frente al investigador y con ambos miembros superiores colgando libremente a los lados del cuerpo. La medida fue tomada inmediatamente sobre las crestas ilíacas y al final de la espiración. Antes de tomar la lectura, se prestó especial atención en ubicar la cinta milimetrada perpendicular al eje longitudinal del cuerpo del sujeto y horizontal al suelo. La presión arterial se midió siguiendo las recomendaciones del VII Informe del Comité Nacional Conjunto para la Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial (JNC-VII, Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure)¹³. Las principales características de este grupo de sujetos han sido publicadas anteriormente¹⁴.

Estudios analíticos

Las muestras se obtuvieron entre las 8.00 y las 9.00 h, después de al menos 10 h de ayuno. La glucosa plasmática se determinó por el método de la glucosa-oxi-

TABLA 1

Características clínicas y lipídicas de los sujetos estudiados, según valores del índice HOMA

Variable	HOMA < 3,8 (n = 92), media (DE)	HOMA \geq 3,8 (n = 85), media (DE)	P	Todos (n = 177), media (DE)
Sexo (varón/mujer), %	26/74	48/52	0,005	38/62
Edad, años	39 (9)	43 (8)	0,005	41 (9)
IMC	24,1 (3)	26,5 (3,5)	0,000	25,2 (3,4)
PC, cm	83,5 (9,5)	92,1 (11)	0,000	87,5 (11,2)
PAS, mmHg	117 (13)	125 (13)	0,001	121 (13)
PAD, mmHg	76 (8)	79 (9)	NS	77 (9)
Colesterol, mg/dl	206 (34)	215 (42)	NS	211 (39)
TG, mg/dl	60 (24)	90 (55)	0,000	74 (43)
cHDL, mg/dl	61 (13)	53 (15)	0,001	57 (14)
cLDL, mg/dl	133 (29)	142 (39)	NS	138 (36)
ApoA1, mg/dl	134 (18)	128 (20)	NS	132 (19)
ApoB, mg/dl	86 (189)	98 (26)	0,004	94 (25)
Glucosa, mg/dl	93 (10)	102 (9)	0,000	98 (11)
Insulinemia, μ U/ml	11,9 (2,6)	21,0 (5,6)	0,000	16,2 (6,3)
Índice HOMA	2,7 (0,6)	2,7 (0,6)	0,000	4,0 (2,0)

apoA1: apolipoproteína A1; apoB: apolipoproteína B; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; Índice HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, *homeostasis model assessment for insulin resistance*); NS: no significativo; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; PC: perímetro de cintura; TG: triglicéridos.

dasa. El colesterol contenido en las fracciones lipoproteínicas, los triglicéridos séricos y el ácido úrico se midieron enzimáticamente. La apolipoproteína A1 (apoA1) y apolipoproteína B (apoB) se midieron por inmunonefelerometría. El colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se calculó según la fórmula de Friedewald¹⁵. La medición de la insulina se realizó por radioinmunoanálisis con un kit comercial (Linco Research Inc.).

Con los datos hasta aquí obtenidos, se aplicó a todos los sujetos los criterios diagnósticos del ATP III⁶ de la siguiente forma (cuando tres de los criterios están presentes, se puede considerar el diagnóstico de SM):

1. Obesidad abdominal (perímetro de cintura): varones, > 102 cm; mujeres, > 88 cm.
2. Triglicéridos ≥ 150 mg/dl.
3. Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL): varones, < 40 mg/dl; mujeres, < 50 mg/dl.
4. Presión arterial $\geq 130/\geq 85$ mmHg.
5. Glucemia en ayunas ≥ 110 mg/dl.

Como indicador de insulinorresistencia (IR) se utilizó el modelo para la evaluación de la IR (HOMA, *homeostasis model assessment for insulin resistance*)¹⁶. El HOMA se calculó a partir de una única determinación de insulinemia y de la siguiente forma:

$$\text{Índice HOMA} = [\text{glucemia en ayunas (mmol/l)} \times \text{insulinemia en ayunas (}\mu\text{U/ml)}] / 22,5$$

Definición de insulinorresistencia

Se definió la IR basada en el HOMA, con el punto de corte que expresa IR: índice HOMA $\geq 3,8$. Se definió este punto de corte considerando un estudio de Ascaso et al¹⁷, quienes seleccionaron a 96 sujetos españoles que no tenían características clínicas ni analíticas del síndrome de insulinorresistencia y obtuvieron que el percentil 90 para el valor del índice HOMA estaba en 3,8.

Análisis estadístico

Se utilizó el estadígrafo de la t de Student para determinar si había diferencias significativas entre los grupos de sujetos con y sin SM según las variables estudiadas. Se construyeron curvas de características operativas para el receptor (curvas ROC) para el cálculo de la sensibilidad y la especificidad que implica la definición diagnóstica del SM según el ATP III y la IDF y para el cálculo de la sensibilidad y la especificidad de los puntos de corte de PC y glucemia. Se obtuvieron estas curvas al representar la frecuencia de verdaderos positivos (sensibilidad) y la frecuencia de falsos positivos (1 - especificidad) a lo largo de los ejes vertical y horizontal, respectivamente, y considerando al índice HOMA < 3,8 como sensibilidad normal a la insulina. Todos los procedimientos estadísti-

cos se realizaron con el programa estadístico SPSS para Windows versión 11.0.1 y se calcularon con un intervalo de confianza del 95%.

Resultados

Las mediciones antropométricas y los resultados de los estudios analíticos de los sujetos incluidos en este estudio según la presencia o ausencia de IR se presentan en la tabla 1. Para el valor de HOMA utilizado como punto de corte, encontramos que los sujetos que tienen mayores valores del índice HOMA tienen significativamente mayores edad, IMC, presión arterial sistólica, triglicéridos y apoB y menores cifras de cHDL. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a presión arterial diastólica, colesterol total y cLDL según el valor de HOMA utilizado. Las concentraciones de apoA1 fueron significativamente diferentes entre los grupos. A pesar de los criterios de exclusión, se detectó en la muestra a 24 (13,5%) sujetos con cifras elevadas de presión arterial, 66 (37,3%) sujetos con sobrepeso, 13 (7,3%) obesos y 3 (1,7%) sujetos con cifras de glucemia de 126 mg/dl.

Los nuevos puntos de corte para el PC y la glucemia propuestos por la IDF mejoran la sensibilidad y la especificidad de estas variables para el diagnóstico de IR, evaluado por el índice HOMA (tabla 2). En cuanto al PC, utilizando las cifras propuestas por el ATP III para el diagnóstico del SM, en nuestros casos se obtuvo un 44,7% de sensibilidad diagnóstica de IR en mujeres y un 73,7% según las cifras propuestas por la IDF. Por otro lado, la especificidad cae desde el 90% para las cifras del ATP III al 53,3% para las cifras de la IDF. El análisis ROC para el PC en varones y utilizando el punto de corte del HOMA en 3,8 no fue significativo. Se obtuvieron similares resultados para las cifras

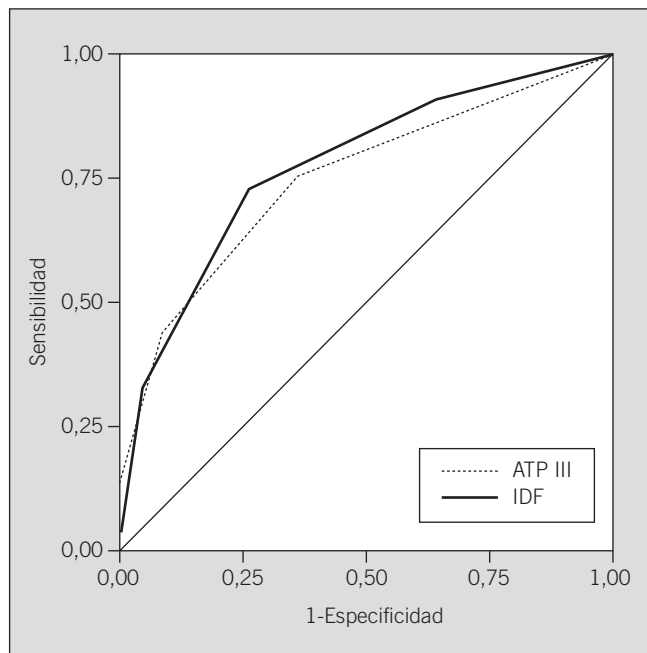


Fig. 1. Curvas ROC que muestran las proporciones de verdaderos positivos (sensibilidad) y de falsos positivos (1 - especificidad) utilizando los criterios diagnósticos del síndrome metabólico propuestos por el ATP III y los propuestos por la IDF. Índice HOMA $\geq 3,8$ como criterio de insulinorresistencia, las áreas bajo las curvas fueron de 0,750 (significación asintótica $p = 0,000$) y de 0,774 (significación asintótica $p = 0,000$), para los criterios del ATP III y de la IDF, respectivamente. ATP III: Adult Treatment Panel III; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation.

TABLA 2

Sensibilidad y especificidad de los puntos de corte del perímetro de cintura según el sexo y de los puntos de corte de la glucemia para detectar insulinorresistencia

Criterios	Puntos de corte	Sexo	3,8 < HOMA $\geq 3,8$		
			S	E	Área
ATP III	PC ≥ 102 cm	Varón	29,4%	81,0%	0,651
IDF	PC ≥ 94 cm	Varón	73,5%	57,1%	
ATP III	PC ≥ 88 cm	Mujer	44,7%	90,0%	0,718 ^b
IDF	PC ≥ 80 cm	Mujer	73,7%	53,3%	
ATP III	Glucemia $\geq 110^a$		19,2%	98,8%	0,773 ^b
IDF	Glucemia $\geq 100^a$		57,5%	86,4%	

Área: área bajo la curva ROC; ATP III: Adult Treatment Panel III; E: especificidad; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation; PC: perímetro de cintura; S: sensibilidad.

^aEn mg/dl.

^bSignificación asintótica de la curva ROC, $p < 0,001$.

de glucemia, y se encontró una sensibilidad del 19,2 y el 57,5% para las cifras propuestas por el ATP III y la IDF, respectivamente. Con respecto a la especificidad, ésta va desde el 98,8% con las cifras del ATP III al 86,4% con las cifras de la IDF. La curva ROC obtenida para las cifras de glucemia mostró significación estadística, con un área bajo la curva significativamente amplia.

TABLA 3

Sensibilidad y especificidad de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico (SM) del ATP III y de la IDF

Criterios de SM (3 o más criterios)	3,8 < HOMA $\geq 3,8$		
	S	E	Área
ATP III	13,7%	100%	0,750*
IDF	34,2%	93,8%	0,774*

Área: área bajo la curva ROC; ATP III: Adult Treatment Panel III; E: especificidad; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation; S: sensibilidad.

*Significación asintótica de la curva ROC, $p < 0,001$.

La tabla 3 muestra la sensibilidad y la especificidad con que se cuenta cuando un sujeto presenta 3 o más de los criterios diagnósticos de SM según el ATP III o con la aplicación de los criterios de la IDF. Como puede verse, estos criterios tienen una baja sensibilidad y alta especificidad en la muestra estudiada. No obstante, la introducción de los cambios propuestos por la IDF garantizan un incremento de casi 3 veces en la sensibilidad diagnóstica para el SM, que pasa desde un 13,7% a un 34,2% utilizando como punto de corte para el HOMA un valor de 3,8. Las curvas ROC realizadas mostraron significación estadística (fig. 1).

Discusión

En nuestro estudio escogimos el índice HOMA como variable que puede expresar IR. Si bien es cierto que el *clamp* euglicémico es el estándar para el diagnóstico de la IR¹⁸, el índice HOMA ha sido ampliamente usado y se correlaciona con

el *clamp* euglicémico, por lo que es un método bien establecido de estimación indirecta de IR^{19,20}. En estudios previos de nuestro grupo demostramos que el índice HOMA se correlaciona muy bien con los componentes del SM en nuestra población y con otras variables también relacionadas con esta entidad¹⁴.

La IDF propone criterios diagnósticos para el SM en los cuales la condición esencial es la existencia de obesidad central; además, proponen disminuir el punto de corte del PC, diferente según sexo y según condición étnica, y de la glucemia a partir de los cuales considerarlo criterio diagnóstico de SM¹². En la muestra estudiada los puntos de corte propuestos por la IDF elevan significativamente la sensibilidad de estas variables para expresar IR con poco detrimento de la especificidad en mujeres, lo cual se aviene mejor a lo que esperamos de estos métodos de detección del SM aplicados en la atención primaria. En nuestras curvas ROC para el PC, según sexo y valores de HOMA, así como para la glucemia, también según valores de HOMA, las cifras que mejor balance muestran entre sensibilidad y especificidad son las propuestas por la IDF. Nuestros resultados expresan que los criterios diagnósticos para el SM, 3 o más según ATP III, tienen baja sensibilidad y alta especificidad, lo que coincide con otros autores. Por ejemplo, Liao Y et al²⁰ han demostrado que los criterios para el diagnóstico del SM aportados por el ATP III son insuficientes e incluso son menos sensibles que otros criterios elaborados por otros grupos de expertos. En ese sentido, recientemente se publicó una actualización de los criterios diagnósticos del SM elaborados por el ATP III en los que se asume que el punto de corte para considerar un diagnóstico de SM por la glucemia sea 100 mg/dl y se reconoce la diferencia étnica en cuanto al punto de corte para el PC¹. De esta manera, la introducción de los nuevos puntos de corte para el PC y para la glucemia aumentan considerablemente la sensibilidad de estos criterios en nuestra muestra, por lo que consideramos que se debe asumir. A pesar de las modificaciones propuestas, los criterios diagnósticos del SM, según la IDF, continúan teniendo escasa sensibilidad para el diagnóstico de IR (alrededor del 34%).

Nuestro estudio tiene limitaciones, ya que fue realizado en sujetos «normales» y menores de 65 años, lo cual puede limitar su extrapolación a grupos de sujetos de mayor edad, con enfermedades establecidas o que consuman medicamentos que modifiquen la sensibilidad a la insulina. Finalmente se deben interpretar con cautela nuestros resultados, teniendo en cuenta que el tamaño de la muestra no es representativo de la población española.

En conclusión, los criterios diagnósticos de SM propuestos por el ATP III tienen muy baja sensibilidad y alta especificidad para el diagnóstico de IR. La modificación de la IDF¹² en los puntos de corte del PC y de la glucemia mejoran la sensibilidad diagnóstica en la población española y, por tanto, parece razonable aplicar dichas propuestas en la práctica clínica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735-52.
2. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004;109:433-8.
3. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365:1415-28.
4. Himsworth HP. The mechanism of diabetes mellitus, I. *Lancet*. 1939;2:1-6.
5. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-607.
6. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
7. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15:539-53.
8. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999;16:442-3.
9. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003;9:237-52.
10. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2289-304.
11. Grundy SM. Metabolic syndrome scientific statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2243-4.
12. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J, for the IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome – a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-62.
13. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72.
14. Merino-Ibarra E, Artieda M, Cénarro A, Goicoechea J, Calvo L, Guallar A, et al. Ultrasonography for the evaluation of visceral fat and the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2005;54:1230-35.
15. Bairaktari E, Hatzidimou K, Tzallas C, Vini M, Katsaraki A, Tselepis A, et al. Estimation of LDL Cholesterol Based on the Friedewald Formula and on Apo B Levels. *Clin Biochem*. 2000;33:549-55.
16. McAuley KA, Williams SH, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care*. 2001;24:460-4.
17. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. *Med Clin (Barc)*. 2001;117:530-3.
18. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. *Diabetes Care*. 1998;21:310-14.
19. Skrha J, Haas T, Sindelka G, Prazny M, Widimsky J, Cibula D, et al. Comparison of the Insulin Action Parameters from Hyperinsulinemic Clamps with Homeostasis Model Assessment and QUICKI Indexes in Subjects with Different Endocrine Disorders. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:135-41.
20. Liao Y, Kwon S, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A, Jenkins AJ, et al. Critical Evaluation of Adult Treatment Panel III Criteria in identifying insulin resistance with dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2004;27:978-83.

Sensibilidad y especificidad de los criterios del síndrome metabólico para el diagnóstico de insulinoresistencia en la población española

Erardo Meriño-Ibarra^{a,b}, Ana Cenarro^a, Paula Martín^a, Ángel Luis García-Otín^a, Jesús Goicoechea^c, Ana Guallar^d, Luisa Calvo^e y Fernando Civeira^{a,b}

^aLaboratorio de Investigación Molecular. ^bServicios de Medicina Interna. ^cPrevención de Riesgos Laborales. ^dMedicina Nuclear. ^eBioquímica. Hospital Universitario Miguel Servet. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.

FUNDAMENTO Y OBJETIVO: El síndrome metabólico (SM) es un trastorno relacionado con obesidad abdominal e insulinoresistencia (IR) y con un elevado riesgo cardiovascular. Recientemente, la International Diabetes Federation (IDF) ha propuesto una modificación de los criterios diagnósticos tradicionales del SM del Adult Treatment Panel III (ATP III). Sin embargo, la sensibilidad de estos nuevos criterios no se ha establecido. Los objetivos del estudio fueron definir sensibilidad y especificidad de los diferentes criterios del SM en nuestra población.

SUJETOS Y MÉTODO: Se estudió en 177 voluntarios adultos sanos (68 varones y 109 mujeres): el índice de masa corporal (IMC), el perímetro de cintura (PC), la presión arterial y los valores de glucosa, insulina, lípidos y apolipoproteínas (apo) A1 y B. Como indicador de IR se utilizó el índice HOMA, considerando IR un índice HOMA $\geq 3,8$.

RESULTADOS: Los sujetos con IR tuvieron mayores edad, IMC, presión arterial sistólica, triglicéridos y apoB y menos colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Un PC ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres (criterio ATP III) mostró baja sensibilidad para IR (el 29,4 y el 44,7% respectivamente), con alta especificidad (el 81 y el 90%). Un PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres (criterio IDF) mostró buena sensibilidad (el 73,5 y el 73,7% respectivamente), pero menor especificidad (el 57,1 y el 53,3%). Los criterios IDF mostraron mejor sensibilidad que los ATP III, sin empeorar sustancialmente la especificidad, para el punto de corte de HOMA.

CONCLUSIONES: Los criterios del ATP III tienen baja sensibilidad en nuestra población. Los nuevos criterios, PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres y glucemia ≥ 100 mg/dl, mejoran 3 veces la sensibilidad diagnóstica de IR y, por tanto, parecen ser más útiles para detectar IR en nuestro medio.

Palabras clave: Síndrome metabólico. Resistencia a la insulina. HOMA. Perímetro de cintura. Diagnóstico.

Sensitivity and specificity of metabolic syndrome criteria for insulin resistance diagnosis in Spanish population

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Metabolic syndrome (MS) is an abdominal obesity and insulin resistance (IR)-related syndrome associated with a high cardiovascular risk. Recently, the International Diabetes Federation (IDF) has proposed a modification of the Adult Treatment Panel III (ATP III) diagnostic criteria. However, the sensitivity of these new criteria has not been established. The aim of the present study was to define the sensitivity and specificity of the different criteria used for the diagnosis of the MS in our population.

SUBJECTS AND METHOD: We studied in 177 healthy subjects, 68 men and 109 women, the body mass index, waist circumference (WC), blood pressure, glucose, insulin, lipids and apolipoproteins A1 and B. The HOMA index was used as an IR indicator. IR was considered with an HOMA index ≥ 3.8 .

RESULTS: Subjects with IR showed higher age, systolic blood pressure, triglycerides and apo B, and lower HDL cholesterol. A WC ≥ 102 cm in men and ≥ 88 cm in women (ATP III criteria) had a low sensitivity for IR (29.4% and 44.7% respectively), with high specificity (81% and 90%). A WC ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women (IDF criteria) showed good sensitivity (73.5% and 73.7% respectively) but less specificity (57.1% and 53.3%). The IDF criteria showed better sensitivity than ATP III, without substantial change in the specificity for the different HOMA cut-off points.

CONCLUSIONS: ATP III criteria had low sensitivity in our population. The new criteria (WC ≥ 94 cm in men and ≥ 80 cm in women, and blood glucose ≥ 100 mg/dL) improve three-fold the diagnostic sensitivity and, therefore, seems to be more useful for detecting IR in our country.

Key words: Metabolic syndrome. Insulin resistance. HOMA. Waist circumference. Diagnosis.

Trabajo financiado en parte por becas FIS 03/1106, RT/G03-181 y RT/C03-01.

Correspondencia: Dr. F. Civeira.
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Miguel Servet.
P.º Isabel la Católica, 1-3. 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: civeira@unizar.es

Recibido el 4-1-2006; aceptado para su publicación el 28-3-2006.

El síndrome metabólico (SM) es un trastorno complejo que se caracteriza por la presencia de un grupo de factores de riesgo cardiovascular que tienden a presentarse de forma conjunta y podrían tener una base etiopatogénica común íntimamente relacionada con la obesidad, muy especialmente con la acumulación abdominal de grasa¹. La importancia del SM radica en su elevada y creciente prevalencia en los países occidentales² que confiere a los pacientes que lo presentan un elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y de posterior desarrollo de diabetes mellitus (DM)³. Por todo ello, el SM es uno de los principales problemas de salud en la mayor parte de los países desarrollados, incluida España³.

Aunque se conocía desde hacía décadas que diferentes factores de riesgo como la DM, la hipertensión arterial (HTA) o la dislipemia se presentaban de forma conjunta con una frecuencia superior a la esperada⁴, no fue hasta 1988 cuando Reaven⁵ sistematizó el cuadro metabólico, definió sus componentes y adelantó su mecanismo fisiopatológico fundamental, la resistencia periférica a la insulina asociada con la obesidad.

Sin embargo, no ha sido hasta el año 2001 cuando el conocido grupo de profesionales de Estados Unidos denominado US National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III (ATP III) estableció una denominación única, unos criterios clínicos sencillos para su diagnóstico, subrayó la importancia del SM como factor de riesgo cardiovascular y del tratamiento de sus componentes⁶. Aunque existen otros criterios diagnósticos del SM⁷⁻⁹, incluso anteriores a los criterios del ATP III, son bastante concordantes con éstos pero mucho menos utilizados en la actualidad.

A partir del informe del ATP III, el interés clínico y científico del SM viene creciendo de forma exponencial en los últimos años y, aunque con reticencias sobre la

conveniencia de su existencia como entidad clínica diferenciada¹⁰, una gran parte de la comunidad científica ve el SM como una buena fórmula para identificar y tratar a sujetos en elevado riesgo cardiovascular¹¹. Muy recientemente la International Diabetes Federation (IDF) ha propuesto una modificación de los criterios iniciales del ATP III con tres cambios: a) definir como condición esencial la obesidad central; b) establecer puntos de corte diferentes del perímetro de cintura (PC) de acuerdo con el origen étnico de la población donde se aplique, y c) reducir la cifra de glucemia de ≥ 110 mg/dl a ≥ 100 mg/dl. En nuestro medio, mayoritariamente de origen europeo, proponen como criterios para el SM un PC ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres¹². Sin embargo, la sensibilidad y la especificidad de estos nuevos criterios no se ha establecido.

Los objetivos del presente estudio son definir sensibilidad y especificidad de los criterios diagnósticos del SM según los criterios propuestos por la IDF con respecto a los previos del ATP III y, en su caso, proponer nuevos valores de PC ajustados a nuestra población.

Sujetos y método

Sujetos

Se estudiaron a 177 voluntarios, 68 varones y 109 mujeres, a quienes se realizó una evaluación médica sistemática en su centro de trabajo. Los criterios de exclusión fueron: sujetos menores de 25 años y mayores de 65 años, consumo excesivo de alcohol (> 30 g/día), enfermedad aguda en curso o uso actual de fármacos que modifiquen el metabolismo lipídico o glucídico (p. ej., fármacos antidiabéticos, antihipertensivos, hipolipemiantes y de tratamiento hormonal sustitutivo). Todos los sujetos firmaron un consentimiento informado y el comité de investigación del hospital aprobó el protocolo del estudio. Además, se cumplieron las normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en octubre del año 2000. Las medidas antropométricas incluyeron: edad, sexo, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), PC y presión arterial. Todas las medidas se realizaron con los sujetos llevando ropa hospitalaria, con mínima ropa interior y sin zapatos. Para el peso se utilizó una balanza calibrada con una escala de 0,1 kg, y la talla se midió con un tallímetro montado en la pared con una escala de 1 mm. El PC se midió con una cinta milimetrada e inelástica (Gulick II, Country Technology, Inc.). La cinta milimetrada se colocó directamente sobre la piel del sujeto mientras éste estaba de pie, frente al investigador y con ambos miembros superiores colgando libremente a los lados del cuerpo. La medida fue tomada inmediatamente sobre las crestas ilíacas y al final de la espiración. Antes de tomar la lectura, se prestó especial atención en ubicar la cinta milimetrada perpendicular al eje longitudinal del cuerpo del sujeto y horizontal al suelo. La presión arterial se midió siguiendo las recomendaciones del VII Informe del Comité Nacional Conjunto para la Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial (JNC-VII, Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure)¹³. Las principales características de este grupo de sujetos han sido publicadas anteriormente¹⁴.

Estudios analíticos

Las muestras se obtuvieron entre las 8.00 y las 9.00 h, después de al menos 10 h de ayuno. La glucosa plasmática se determinó por el método de la glucosa-oxi-

TABLA 1

Características clínicas y lipídicas de los sujetos estudiados, según valores del índice HOMA

Variable	HOMA < 3,8 (n = 92), media (DE)	HOMA \geq 3,8 (n = 85), media (DE)	p	Todos (n = 177), media (DE)
Sexo (varón/mujer), %	26/74	48/52	0,005	38/62
Edad, años	39 (9)	43 (8)	0,005	41 (9)
IMC	24,1 (3)	26,5 (3,5)	0,000	25,2 (3,4)
PC, cm	83,5 (9,5)	92,1 (11)	0,000	87,5 (11,2)
PAS, mmHg	117 (13)	125 (13)	0,001	121 (13)
PAD, mmHg	76 (8)	79 (9)	NS	77 (9)
Colesterol, mg/dl	206 (34)	215 (42)	NS	211 (39)
TG, mg/dl	60 (24)	90 (55)	0,000	74 (43)
cHDL, mg/dl	61 (13)	53 (15)	0,001	57 (14)
cLDL, mg/dl	133 (29)	142 (39)	NS	138 (36)
ApoA1, mg/dl	134 (18)	128 (20)	NS	132 (19)
ApoB, mg/dl	86 (18)	98 (26)	0,004	94 (25)
Glucosa, mg/dl	93 (10)	102 (9)	0,000	98 (11)
Insulinemia, μ U/ml	11,9 (2,6)	21,0 (5,6)	0,000	16,2 (6,3)
Índice HOMA	2,7 (0,6)	2,7 (0,6)	0,000	4,0 (2,0)

apoA1: apolipoproteína A1; apoB: apolipoproteína B; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; Índice HOMA: modelo para la evaluación de la insulinoresistencia (del inglés, *homeostasis model assessment for insulin resistance*); NS: no significativo; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; PC: perímetro de cintura; TG: triglicéridos.

dasa. El colesterol contenido en las fracciones lipoproteínicas, los triglicéridos séricos y el ácido úrico se midieron enzimáticamente. La apolipoproteína A1 (apoA1) y apolipoproteína B (apoB) se midieron por inmunonefelerometría. El colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se calculó según la fórmula de Friedewald¹⁵. La medición de la insulina se realizó por radioinmunoanálisis con un kit comercial (Linco Research Inc.).

Con los datos hasta aquí obtenidos, se aplicó a todos los sujetos los criterios diagnósticos del ATP III⁶ de la siguiente forma (cuando tres de los criterios están presentes, se puede considerar el diagnóstico de SM):

1. Obesidad abdominal (perímetro de cintura): varones, > 102 cm; mujeres, > 88 cm.
2. Triglicéridos ≥ 150 mg/dl.
3. Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL): varones, < 40 mg/dl; mujeres, < 50 mg/dl.
4. Presión arterial $\geq 130/\geq 85$ mmHg.
5. Glucemia en ayunas ≥ 110 mg/dl.

Como indicador de insulinoresistencia (IR) se utilizó el modelo para la evaluación de la IR (HOMA, *homeostasis model assessment for insulin resistance*)¹⁶. El HOMA se calculó a partir de una única determinación de insulinemia y de la siguiente forma:

$$\text{Índice HOMA} = [\text{glucemia en ayunas (mmol/l)} \times \text{insulinemia en ayunas (\mu U/ml)}] / 22,5$$

Definición de insulinoresistencia

Se definió la IR basada en el HOMA, con el punto de corte que expresa IR: índice HOMA $\geq 3,8$. Se definió este punto de corte considerando un estudio de Ascaso et al¹⁷, quienes seleccionaron a 96 sujetos españoles que no tenían características clínicas ni analíticas del síndrome de insulinoresistencia y obtuvieron que el percentil 90 para el valor del índice HOMA estaba en 3,8.

Análisis estadístico

Se utilizó el estadígrafo de la t de Student para determinar si había diferencias significativas entre los grupos de sujetos con y sin SM según las variables estudiadas. Se construyeron curvas de características operativas para el receptor (curvas ROC) para el cálculo de la sensibilidad y la especificidad que implica la definición diagnóstica del SM según el ATP III y la IDF y para el cálculo de la sensibilidad y la especificidad de los puntos de corte de PC y glucemia. Se obtuvieron estas curvas al representar la frecuencia de verdaderos positivos (sensibilidad) y la frecuencia de falsos positivos (1 - especificidad) a lo largo de los ejes vertical y horizontal, respectivamente, y considerando al índice HOMA $< 3,8$ como sensibilidad normal a la insulina. Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS para Windows versión 11.0.1 y se calcularon con un intervalo de confianza del 95%.

cos se realizaron con el programa estadístico SPSS para Windows versión 11.0.1 y se calcularon con un intervalo de confianza del 95%.

Resultados

Las mediciones antropométricas y los resultados de los estudios analíticos de los sujetos incluidos en este estudio según la presencia o ausencia de IR se presentan en la tabla 1. Para el valor de HOMA utilizado como punto de corte, encontramos que los sujetos que tienen mayores valores del índice HOMA tienen significativamente mayores edad, IMC, presión arterial sistólica, triglicéridos y apoB y menores cifras de cHDL. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a presión arterial diastólica, colesterol total y cLDL según el valor de HOMA utilizado. Las concentraciones de apoA1 fueron significativamente diferentes entre los grupos. A pesar de los criterios de exclusión, se detectó en la muestra a 24 (13,5%) sujetos con cifras elevadas de presión arterial, 66 (37,3%) sujetos con sobrepeso, 13 (7,3%) obesos y 3 (1,7%) sujetos con cifras de glucemia de 126 mg/dl.

Los nuevos puntos de corte para el PC y la glucemia propuestos por la IDF mejoran la sensibilidad y la especificidad de estas variables para el diagnóstico de IR, evaluado por el índice HOMA (tabla 2). En cuanto al PC, utilizando las cifras propuestas por el ATP III para el diagnóstico del SM, en nuestros casos se obtuvo un 44,7% de sensibilidad diagnóstica de IR en mujeres y un 73,7% según las cifras propuestas por la IDF. Por otro lado, la especificidad cae desde el 90% para las cifras del ATP III al 53,3% para las cifras de la IDF. El análisis ROC para el PC en varones y utilizando el punto de corte del HOMA en 3,8 no fue significativo. Se obtuvo similares resultados para las cifras

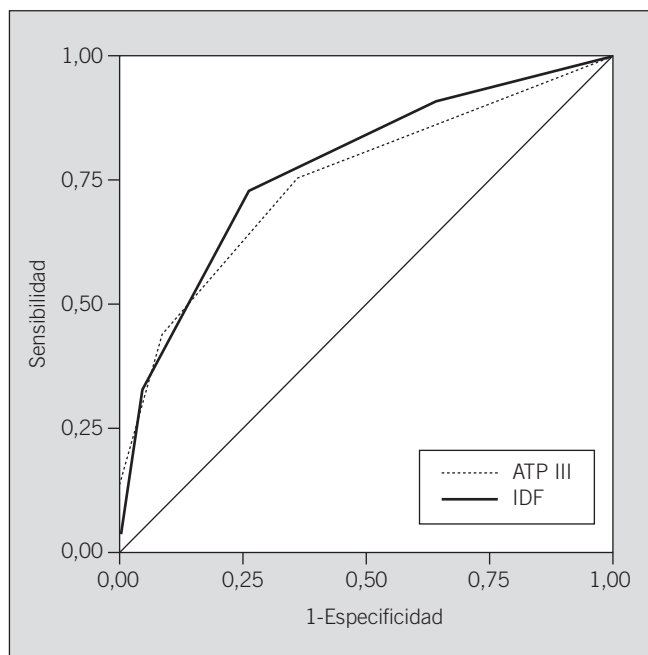


Fig. 1. Curvas ROC que muestran las proporciones de verdaderos positivos (sensibilidad) y de falsos positivos (1 - especificidad) utilizando los criterios diagnósticos del síndrome metabólico propuestos por el ATP III y los propuestos por la IDF. Índice HOMA $\geq 3,8$ como criterio de insulinorresistencia, las áreas bajo las curvas fueron de 0,750 (significación asintótica $p = 0,000$) y de 0,774 (significación asintótica $p = 0,000$), para los criterios del ATP III y de la IDF, respectivamente. ATP III: Adult Treatment Panel III; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation.

TABLA 2

Sensibilidad y especificidad de los puntos de corte del perímetro de cintura según el sexo y de los puntos de corte de la glucemia para detectar insulinorresistencia

Criterios	Puntos de corte	Sexo	3,8 < HOMA $\geq 3,8$		
			S	E	Área
ATP III	PC ≥ 102 cm	Varón	29,4%	81,0%	0,651
IDF	PC ≥ 94 cm	Varón	73,5%	57,1%	
ATP III	PC ≥ 88 cm	Mujer	44,7%	90,0%	0,718 ^b
IDF	PC ≥ 80 cm	Mujer	73,7%	53,3%	
ATP III	Glucemia $\geq 110^a$		19,2%	98,8%	0,773 ^b
IDF	Glucemia $\geq 100^a$		57,5%	86,4%	

Área: área bajo la curva ROC; ATP III: Adult Treatment Panel III; E: especificidad; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation; PC: perímetro de cintura; S: sensibilidad.

^aEn mg/dl.

^bSignificación asintótica de la curva ROC, $p < 0,001$.

de glucemia, y se encontró una sensibilidad del 19,2 y el 57,5% para las cifras propuestas por el ATP III y la IDF, respectivamente. Con respecto a la especificidad, ésta va desde el 98,8% con las cifras del ATP III al 86,4% con las cifras de la IDF. La curva ROC obtenida para las cifras de glucemia mostró significación estadística, con un área bajo la curva significativamente amplia.

TABLA 3

Sensibilidad y especificidad de los criterios diagnósticos de síndrome metabólico (SM) del ATP III y de la IDF

Criterios de SM (3 o más criterios)	3,8 < HOMA $\geq 3,8$		
	S	E	Área
ATP III	13,7%	100%	0,750*
IDF	34,2%	93,8%	0,774*

Área: área bajo la curva ROC; ATP III: Adult Treatment Panel III; E: especificidad; HOMA: modelo para la evaluación de la insulinorresistencia (del inglés, homeostasis model assessment for insulin resistance); IDF: International Diabetes Federation; S: sensibilidad.

*Significación asintótica de la curva ROC, $p < 0,001$.

La tabla 3 muestra la sensibilidad y la especificidad con que se cuenta cuando un sujeto presenta 3 o más de los criterios diagnósticos de SM según el ATP III o con la aplicación de los criterios de la IDF. Como puede verse, estos criterios tienen una baja sensibilidad y alta especificidad en la muestra estudiada. No obstante, la introducción de los cambios propuestos por la IDF garantizan un incremento de casi 3 veces en la sensibilidad diagnóstica para el SM, que pasa desde un 13,7% a un 34,2% utilizando como punto de corte para el HOMA un valor de 3,8. Las curvas ROC realizadas mostraron significación estadística (fig. 1).

Discusión

En nuestro estudio escogimos el índice HOMA como variable que puede expresar IR. Si bien es cierto que el *clamp* euglucémico es el estándar para el diagnóstico de la IR¹⁸, el índice HOMA ha sido ampliamente usado y se correlaciona con

el *clamp* euglucémico, por lo que es un método bien establecido de estimación indirecta de IR^{19,20}. En estudios previos de nuestro grupo demostramos que el índice HOMA se correlaciona muy bien con los componentes del SM en nuestra población y con otras variables también relacionadas con esta entidad¹⁴.

La IDF propone criterios diagnósticos para el SM en los cuales la condición esencial es la existencia de obesidad central; además, proponen disminuir el punto de corte del PC, diferente según sexo y según condición étnica, y de la glucemia a partir de los cuales considerarlo criterio diagnóstico de SM¹². En la muestra estudiada los puntos de corte propuestos por la IDF elevan significativamente la sensibilidad de estas variables para expresar IR con poco detrimento de la especificidad en mujeres, lo cual se aviene mejor a lo que esperamos de estos métodos de detección del SM aplicados en la atención primaria. En nuestras curvas ROC para el PC, según sexo y valores de HOMA, así como para la glucemia, también según valores de HOMA, las cifras que mejor balance muestran entre sensibilidad y especificidad son las propuestas por la IDF. Nuestros resultados expresan que los criterios diagnósticos para el SM, 3 o más según ATP III, tienen baja sensibilidad y alta especificidad, lo que coincide con otros autores. Por ejemplo, Liao Y et al²⁰ han demostrado que los criterios para el diagnóstico del SM aportados por el ATP III son insuficientes e incluso son menos sensibles que otros criterios elaborados por otros grupos de expertos. En ese sentido, recientemente se publicó una actualización de los criterios diagnósticos del SM elaborados por el ATP III en los que se asume que el punto de corte para considerar un diagnóstico de SM por la glucemia sea 100 mg/dl y se reconoce la diferencia étnica en cuanto al punto de corte para el PC¹. De esta manera, la introducción de los nuevos puntos de corte para el PC y para la glucemia aumentan considerablemente la sensibilidad de estos criterios en nuestra muestra, por lo que consideramos que se debe asumir. A pesar de las modificaciones propuestas, los criterios diagnósticos del SM, según la IDF, continúan teniendo escasa sensibilidad para el diagnóstico de IR (alrededor del 34%).

Nuestro estudio tiene limitaciones, ya que fue realizado en sujetos «normales» y menores de 65 años, lo cual puede limitar su extrapolación a grupos de sujetos de mayor edad, con enfermedades establecidas o que consuman medicamentos que modifican la sensibilidad a la insulina. Finalmente se deben interpretar con cautela nuestros resultados, teniendo en cuenta que el tamaño de la muestra no es representativo de la población española.

En conclusión, los criterios diagnósticos de SM propuestos por el ATP III tienen muy baja sensibilidad y alta especificidad para el diagnóstico de IR. La modificación de la IDF¹² en los puntos de corte del PC y de la glucemia mejoran la sensibilidad diagnóstica en la población española y, por tanto, parece razonable aplicar dichas propuestas en la práctica clínica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735-52.
2. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004;109:433-8.
3. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365:1415-28.
4. Himsworth HP. The mechanism of diabetes mellitus. *Lancet*. 1939;2:1-6.
5. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-607.
6. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
7. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15:539-53.
8. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999;16:442-3.
9. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003;9:237-52.
10. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2289-304.
11. Grundy SM. Metabolic syndrome scientific statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:2243-4.
12. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J, for the IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome – a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-62.
13. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72.
14. Merino-Ibarra E, Artieda M, Cenarro A, Goicoechea J, Calvo L, Guallar A, et al. Ultrasonography for the evaluation of visceral fat and the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2005;54:1230-35.
15. Bairaktari E, Hatzidimou K, Tzallas C, Vini M, Katsaraki A, Tselepis A, et al. Estimation of LDL Cholesterol Based on the Friedewald Formula and on Apo B Levels. *Clin Biochem*. 2000;33:549-55.
16. McAuley KA, Williams SH, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care*. 2001;24:460-4.
17. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. *Med Clin (Barc)*. 2001;117:530-3.
18. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. *Diabetes Care*. 1998;21:310-14.
19. Skrha J, Haas T, Sindelka G, Prazny M, Widimsky J, Cibula D, et al. Comparison of the Insulin Action Parameters from Hyperinsulinemic Clamps with Homeostasis Model Assessment and QUICKI Indexes in Subjects with Different Endocrine Disorders. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:135-41.
20. Liao Y, Kwon S, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A, Jenkins AJ, et al. Critical Evaluation of Adult Treatment Panel III Criteria in identifying insulin resistance with dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2004;27:978-83.

Hyperlipoproteinaemia(a) is a common cause of autosomal dominant hypercholesterolaemia

E. Meriño-Ibarra · J. Puzo · E. Jarauta · A. Cenarro · D. Recalde · Á. L. García-Otín · E. Ros · E. Martorell · X. Pintó · M. Franco · D. Zambón · Á. Brea · M. Pocoví · F. Civeira

Received: 14 February 2007 / Submitted in revised form: 3 May 2007 / Accepted: 17 July 2007 / Published online: 20 October 2007
© SSIEM and Springer 2007

Summary Autosomal dominant hypercholesterolaemias (ADH) are a heterogeneous group of monogenic lipid disorders. The plasma level of lipoprotein(a) (Lp(a)) is a heritable trait associated with increased coronary heart disease (CHD) risk. *Objective:* To evaluate the frequency of elevated Lp(a) as a cause of ADH and the characteristics of subjects with high Lp(a) (hyperLp(a)). *Material and methods:* 200 healthy subjects and 933 unrelated Spanish subjects with a clinical diagnosis of ADH who were screened for low-density lipoprotein receptor (*LDLR*) and

apolipoprotein B (*APOB*) gene mutations. Standard cardiovascular risk factors and blood lipid levels, including Lp(a), were evaluated. HyperLp(a) was defined as Lp(a) levels ≥ 95 th centile of control values. *Results:* Lp(a) was higher in 263 subjects without *LDLR* or *APOB* mutations (nonLDLR/nonAPOB group) than in 670 subjects with mutations (FH group): 40.0 mg/dl (interquartile range (IR) 15.0–89.0) versus 31.0 mg/dl (IR 11.0–73.7) respectively, $p=0.002$. HyperLp(a) was present in 23% of ADH subjects (odds ratio (OR) 5.6 (95% CI, 2.9 to 10.7) versus controls) and 29% of nonLDLR/nonAPOB subjects (OR 7.7; 3.9 to 15.4). After adjusting for Lp(a), LDL cholesterol levels were <95 th centile in 28 (10.6%) nonLDLR/nonAPOB subjects and in 9 (1.3%) FH subjects. Lp(a) levels were nonsignificantly higher in ADH subjects with early-onset CHD than in those without (43.5 mg/dl, (IR, 12.0–82.0) versus 31.7 mg/dl (11.8–76.5), respectively). *Conclusions:* HyperLp(a) is responsible for ADH in approximately 6% of nonLDLR/nonAPOB subjects. HyperLp(a) would not appear to be a risk

Communicating editor: Robert Steiner

Competing interests: None declared

Electronic Supplementary Material The online version of this article (doi:10.1007/s10545-007-0585-z) contains supplementary material, which is available to authorized users.

References to electronic databases: Familial hypercholesterolaemia: OMIM #143890. Familial defective apo B: OMIM #144010. *PCSK9*: OMIM *607786. Neural apoptosis-regulated convertase 1: OMIM *607786. Lipoprotein(a): OMIM +152200.

E. Meriño-Ibarra · E. Jarauta · A. Cenarro · D. Recalde · Á. L. García-Otín · F. Civeira (✉)
Lipid Unit and Molecular Research Laboratory, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Avda Isabel La Católica 1–3, 50009 Zaragoza, Spain
e-mail: civeira@unizar.es

J. Puzo
Lipid Unit, Hospital San Jorge, Huesca, Spain

E. Ros · D. Zambón
Lipid Clinic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

E. Martorell
Lipid Unit, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, Spain

X. Pintó
Lipid & Atherosclerosis Unit, Hospital de Bellvitge, Barcelona, Spain

M. Franco
Lipid Unit, Hospital Santa Cruz y San Pablo, Barcelona, Spain

Á. Brea
Lipid Unit, Hospital San Millán, Logroño, Spain

M. Pocoví
Department of Biochemistry, Molecular and Cellular Biology, Zaragoza University, Zaragoza, Spain

factor for early-onset CHD in ADH, independently of whether genetic defects have or have not been demonstrated.

Abbreviations

ADH	autosomal dominant hypercholesterolaemias
apo B	apolipoprotein B-100
apo(a)	apolipoprotein(a)
apoA	apolipoprotein A
<i>APOB</i>	apolipoprotein B gene
CHD	coronary heart disease
FDB	familial defective apo B
FH	familial hypercholesterolaemia
HDL	high-density lipoprotein
hyperLp(a)	hyperlipoprotein(a)
IR	interquartile range
LDL	low-density lipoprotein
<i>LDLR</i>	<i>LDLR</i> gene
LDLR	low-density lipoprotein receptor
Lp(a)	lipoprotein(a)
NARC-1	neural apoptosis-regulated convertase 1
<i>PCSK9</i>	proprotein convertase subtilisin/kexin-type 9 gene
TG	triglycerides

Introduction

Autosomal dominant hypercholesterolaemias (ADH) are a heterogeneous group of genetic lipid disorders characterized by high levels of total and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, elevated risk of early-onset coronary heart disease (CHD), and familial transmission with an autosomal dominant pattern (Rader et al 2003). Well-known causes of ADH include defects in the LDL receptor (*LDLR*) or its cognate ligand apolipoprotein B-100 (apo B), leading to familial hypercholesterolaemia (FH, OMIM #143890) and familial defective apo B (FDB, OMIM #144010), respectively (Kastelein et al 2005). Genetic studies have shown mutations in either *LDLR* or *APOB* genes in 50–80% of subjects with ADH (Bhatnagar et al 2000; Castillo et al 2002; Hadfield and Humphries 2005). Thus, the cause remains unknown for 20–50% of ADH cases (Damgaard et al 2005). More recently, mutations in the proprotein convertase subtilisin/kexin-type 9 gene (*PCSK9*, OMIM *607786) coding for the neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1, OMIM *607786) have been described as a rare cause of ADH in caucasian populations (Abifadel et al 2003).

Lipoprotein(a) (Lp(a), OMIM+152200), first described in 1963 by Berg (Berg 1963), is made up of an LDL particle with an apoprotein(a) (apo(a)) molecule covalently linked to apo B by at least one disulfide bond. Plasma Lp(a) levels are highly variable within and between populations (Jenner et al 1993; Marcovina et al 1996). The rate of formation of Lp(a), rather than its catabolism, is the main determinant of plasma concentrations (Utermann 2001). Additionally, apo(a) isoform size is inversely related to plasma Lp(a) concentrations because of an increased retention time for larger apo(a) isoforms in the endoplasmic reticulum, which favours intracellular degradation in hepatocytes (White et al 1994). On the basis of amino acid sequencing, apo(a) contains 10 types of plasminogen kringle 4-like motifs (designated k4 types 1–10) (Utermann 2001). The size of apo(a) depends on the variable number of identical copies (3 to >40) of the K4 type 2 motif, which is the consequence of multiple autosomal alleles differing in the number of sequences encoding for this motif in the apo(a) gene (Marcovina et al. 2003). Lp(a) is inherited as an autosomal dominant trait by a major dominant gene (Utermann 2001). Thus, a single gene largely determines the Lp(a) level in caucasian populations.

We hypothesized that some cases of ADH could be due to high levels of Lp(a). Therefore, we determined Lp(a) concentrations in a large sample of Spanish subjects with ADH and assessed the frequency of high plasma levels of Lp(a) (hyperLp(a)) and the clinical and biochemical characteristics of subjects with this lipid disorder.

Material and methods

Study subjects

All consecutive subjects aged 18 years or older with a clinical diagnosis of ADH ($n=933$) attending seven Spanish lipid clinics were recruited following the protocol previously described (Pocovi et al 2004) from September 1999 to December 2005. Lipid clinics are located in general hospitals mainly associated with academic institutions. Physicians running the lipid clinics participating in the study have ample experience in the management of lipid abnormalities, and patients are referred to them by general practitioners of their region. Three meetings were held with the physicians of the study to homogenize the recovery of data, including personal and family history of cardiovascular disease (CVD), anthropometric measurements, and detection of tendon xanthomas and arcus corneae.

Secondary hyperlipidaemia, including hypothyroidism, renal disease, diabetes mellitus, cholestasis, Cushing syndrome and the use of drugs affecting lipid metabolism were ruled out in all subjects. A diagnosis of ADH was made in subjects with off-treatment LDL cholesterol levels, specific according to age and sex, ≥ 95 th centile of a Spanish reference population (Gomez-Gerique et al 1999); triglyceride (TG) levels below 200 mg/dl; at least two first-degree relatives with a similar lipid phenotype; and with vertical transmission trait. A group of 200 healthy control subjects was also studied.

Clinical data, history of early-onset CHD, demographic and anthropometric measurements, and a physical examination searching for tendon xanthomas were obtained in each subject. Early-onset CHD was defined as occurring before 55 years of age in men and 65 years of age in women. Informed consent was obtained from all subjects and the ethical committee on human research from each institution approved the protocol. Procedures were in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000.

Laboratory methods

To obtain a baseline lipid profile in asymptomatic subjects, overnight fasting blood was drawn after at least 4 weeks without hypolipidaemic drug treatment in each lipid clinic participating in the study by well-standardized methods. In patients with CHD, baseline lipid levels were obtained prior to the cardiovascular event from review of clinical histories. LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation. Lp(a)

was determined in a central laboratory by kinetic immunonephelometry with polyclonal antibodies (Beckman). Lp(a)-adjusted LDL cholesterol was calculated as recommended by Dahlen (Dahlen 1990; Dahlen 1992) as follows (in mg/dl): total cholesterol – triglycerides/5 – HDL cholesterol – $0.3 \times \text{Lp(a)}$. HyperLp(a) was diagnosed when the Lp(a) level was ≥ 95 th centile (82.0 mg/dl) of the control group.

Genetic analyses

The DNA of individuals with a clinical diagnosis of ADH was screened for *LDLR* and *APOB* mutations following standard protocols described elsewhere (Pocovi et al 2004). For *LDLR* gene analysis we used a microarray (Lipochip) (Tejedor et al 2005) and, when no mutations were detected, we sequenced the *LDLR* gene (Pocovi et al 2004). Large rearrangements in *LDLR* were analysed using a method based on quantitative fluorescent multiplex PCR (Heath et al 2000). Mutations within the putative receptor-binding region of the *APOB* gene were screened as described (Merino-Ibarra et al 2005).

Statistical methods

Data are expressed as means, standard deviations and ranges for continuous variables with normal distribution and as medians and interquartile ranges (IR) for variables with a skewed distribution. Statistical differences were calculated by using Student's *t*-test or the Mann–Whitney *U*-test, as appropriate. Categorical variables were compared using the chi-square test.

Table 1 Clinical, anthropometric and lipid characteristics of study subjects by presence or absence of *LDLR* or *APOB* mutations

Variable	FH group	nonLDLR/ nonAPOB group	<i>p</i>	All	Range
Number	670	263		933	
Male [<i>n</i> (%)]	299 (44.6)	128 (48.6)	0.265	427 (45.8)	
Age (years)	50.0 (14)	53.5 (12)	0.001	51 (14)	18–87
Early-onset CHD [<i>n</i> (%)]	139 (20.7)	36 (13.6)	0.011	175 (18.8)	
Tendon xanthomas [<i>n</i> (%)]	174 (25.9)	21 (7.9)	0.001	195 (20.9)	
Body mass index (kg/m ²)	26.1 (4.8)	26.0 (3.3)	0.361	26.1 (4.4)	16.0–76.7
Total cholesterol (mg/dl)	406 (75)	349 (43)	0.001	390 (73)	271–835
Triglycerides (mg/dl)	102 (80–134)	118 (91–153)	0.001	106 (82–140)	11–199
HDL cholesterol (mg/dl)	54 (15)	57 (14)	0.002	55 (14)	21–129
LDL cholesterol (mg/dl)	331 (75)	268 (43)	0.001	313 (74)	193–786
Lipoprotein(a) (mg/dl)	31.0 (11.0–73.7)	40.0 (15.0–89.0)	0.002	32.6 (11.7–77.0)	1.0–321
Lipoprotein(a)-adjusted LDL cholesterol (mg/dl) ^a	317 (75)	250 (44)	0.001	298 (74)	141–786

CHD, coronary heart disease.

Data as number (percentage), means (standard deviation), or medians (interquartile range).

^aEstimated by the Friedewald formula and adjusted for the Lp(a) concentration using Dahlen's modification.

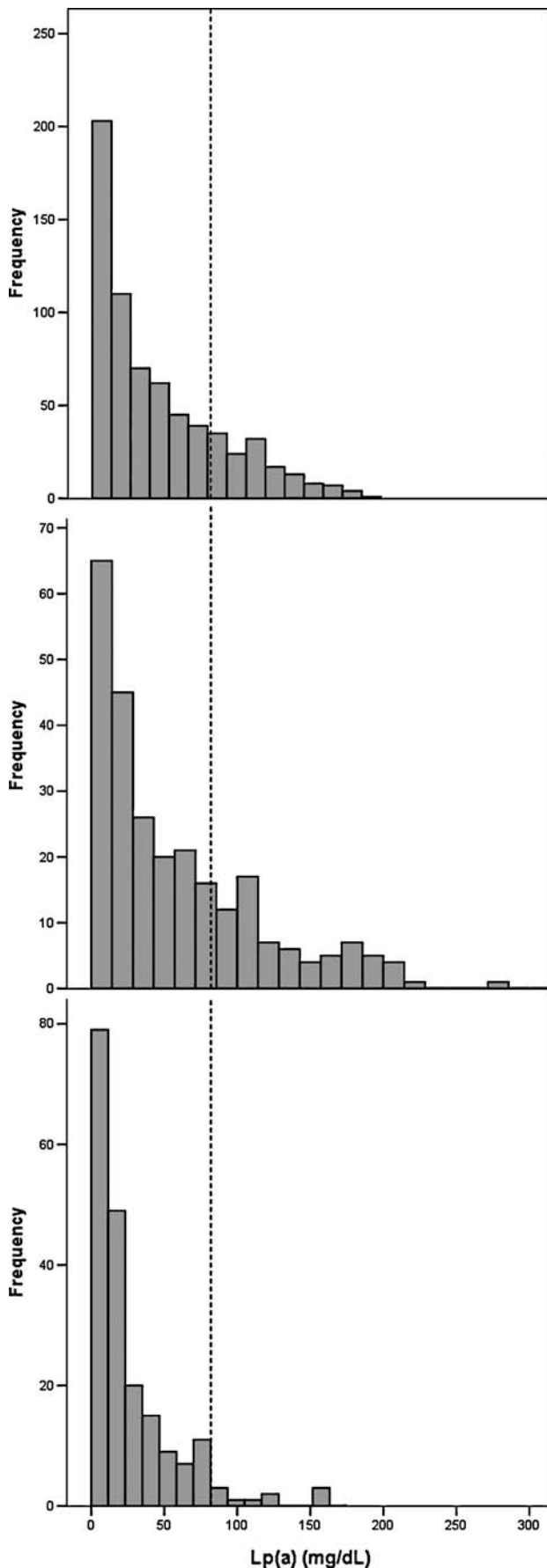


Fig. 1 Lp(a) distribution. Top: Subjects with *LDLR* or *APOB* gene mutations, in text FH group. Middle: Subjects without mutations in *LDLR* or *APOB* genes, in text nonLDLR/non-APOB group. Bottom: Control subjects. Dotted line: 95th centile of Lp(a) concentrations (82.0 mg/dl).

All statistical analyses were performed with SPSS software (version 13.0), with significance set at $p < 0.05$. Odds ratios were calculated using Wolf test and with Epidat 3.1 free software with significance set at $p < 0.05$.

Results

We studied 933 ADH subjects, 45.8% men and 54.2% women, with a mean age of 51 years. A causative mutation in *LDLR* gene was found in 665 subjects and an *APOB* gene mutation was demonstrated in 5 subjects (Supplemental table in Electronic Supplementary Material). Thus, there were 670 subjects with a genetic diagnosis (FH group) and 263 subjects with no genetic defect identified (nonLDLR/nonAPOB group). The main characteristics of the two groups are shown in Table 1. FH subjects were younger, had a higher frequency of early-onset CHD and tendon xanthomas, and showed higher levels of total cholesterol, LDL cholesterol, and Lp(a)-adjusted LDL cholesterol. On the other hand, the nonLDLR/non-APOB subjects had higher levels of triglycerides, HDL cholesterol, and Lp(a).

Lp(a) distribution among ADH and control groups

The distribution of Lp(a) concentrations was skewed in all groups (Fig. 1). Levels varied widely in ADH subjects, ranging from 1.0 to 321 mg/dl (Table 1 and Fig. 1, top and middle), and were significantly higher than those of the control group (Fig. 1, bottom): 32.6 (IR 11.7–77.0) mg/dl and 16 (IR 5.60–38.5) mg/dl, respectively. High Lp(a) levels (≥ 95 th centile) were present in 212 (22.7%) subjects with ADH and 10 (5%) control subjects, indicating an odds ratio of 5.58 (95% CI, 2.90 to 10.74), $p < 0.001$.

Lp(a) concentration and genetic diagnoses

Lp(a) levels were higher in the nonLDLR/nonAPOB group than in the FH group (Table 1). This was due to the presence of more subjects with hyperLp(a) among nonLDLR/nonAPOB subjects. A total of 76 (28.9%) nonLDLR/nonAPOB subjects had Lp(a) levels ≥ 95 th centile compared with 136 (20.3%) FH subjects

Table 2 Clinical, anthropometrics and lipids characteristics of ADH subjects in the nonLDLR/nonAPOB group according to lipoprotein(a) levels

Variable	Lp(a) <95th centile	Lp(a) ≥95 centile	<i>p</i>
Number	187	76	
Male [<i>n</i> (%)]	98 (52.4)	30 (39.5)	0.057
Lipoprotein(a) (mg/dl)	23.0 (9.2–45.8)	120 (100–171)	0.001
Age (years)	53 (12)	54 (12)	0.388
Early-onset CHD [<i>n</i> (%)]	23 (12.3)	13 (17.1)	0.304
Tendon xanthomas [<i>n</i> (%)]	16 (8.6)	5 (6.6)	0.577
Body mass index (kg/m ²)	26.2 (3.3)	25.7 (3.2)	0.293
Total cholesterol (mg/dl)	344 (40)	360 (47)	0.008
Triglycerides (mg/dl)	124 (39)	113 (40)	0.049
HDL cholesterol (mg/dl)	56 (14)	59 (15)	0.325
LDL cholesterol (mg/dl)	263 (41)	280 (45)	0.004
Lipoprotein(a)-adjusted LDL cholesterol (mg/dl) ^a	254 (42)	239 (49)	0.023

CHD, coronary heart disease.

Data as number (percentage), means (standard deviation), or medians (interquartile range).

^aEstimated by the Friedewald formula and adjusted for the Lp(a) concentration using Dahlen's modification.

($p=0.004$). The between-group differences in the frequency of hyperLp(a) can be easily identified in Fig. 1. Compared with the control group, the OR for hyperLp(a) was 7.72 (95% CI, 3.87 to 15.38) in nonLDLR/nonAPOB subjects. When hyperLp(a) subjects were taken out of the analysis, the medians and distribution of Lp(a) were very similar in both ADH groups (21.0 mg/dl (IR 7.8–43.6) and 23.0 mg/dl (IR 9.2–45.8) in FH and nonLDLR/nonAPOB, respectively) but remained higher than control values.

Characteristics of hyperLp(a) in nonLDLR/nonAPOB subjects

Table 2 shows the characteristics of nonLDLR/nonAPOB subjects by presence or absence of hyperLp(a). Compared with subjects with Lp(a) levels <95th centile, those with hyperLp(a) had higher levels of total and LDL cholesterol and lower triglycerides. After adjusting for Lp(a), the LDL cholesterol level fell below the 95th centile of the reference population (Pocovi et al 2004) in 28 (10.6%) subjects in the nonLDLR/nonAPOB group and only in 9 (1.3%) subjects in the FH group.

Early-onset coronary heart disease and hyperLp(a)

The Lp(a) level in ADH subjects with and without early-onset CHD was 43.5 mg/dl (IR 12.0–82.0) and 31.7 mg/dl (IR 11.8–76.5), respectively ($p=0.086$). The frequency of premature CHD in subjects with and

without hyperLp(a) in the nonLDLR/nonAPOB ADH was 17.1% and 12.3%, respectively, without statistical difference between groups, $p=0.304$ (Table 2). Similarly, among the FH subjects, premature CHD was present in 31(22.8%) with hyperLp(a) and in 108 (20.4%) without hyperLp(a), and this difference was also not statistically different between groups, $p=0.550$.

Discussion

We determined the Lp(a) concentration in a large group of subjects with ADH, with and without mutations in the *LDLR* or *APOB* genes and with and without early-onset CHD. Three main conclusions can be drawn from our results.

First, hyperLp(a) is not uncommon among subjects with a clinical diagnosis of ADH, and in some cases it is the main cause of hypercholesterolaemia. The calculation of LDL cholesterol by the Friedewald formula does not differentiate the cholesterol associated with Lp(a) (Li et al 1994), a fraction that could be significant in subjects with hyperLp(a). In our study, hyperLp(a) was an important cause of ADH in 21 (2.2%) subjects from the overall study group because, when LDL cholesterol was corrected for the amount linked to Lp(a), a value ≥95th centile was no longer present. When subjects with *LDLR* or *APOB* gene mutations were excluded, the proportion of subjects with hyperLp(a) and an LDL cholesterol <95th centile increased to 6.4%. Thus, approximately 1 in 15 ADH without mutations in the *LDLR* or *APOB* genes are

related to the Lp(a) locus. The frequency of hyperLp(a) among subjects with ADH has not been previously studied. The clinical and anthropometrics characteristics were similar in subjects with and without hyperLp(a) in the nonLDLR/nonAPOB group. Thus, we believe that Lp(a) concentrations should be considered in the diagnostic protocol of ADH and that LDLR and apo B genetic studies are probably unnecessary in subjects with hyperLp(a) and normal Lp(a)-adjusted LDL cholesterol because elevated Lp(a) levels justify the excess LDL cholesterol.

Second, the Lp(a) concentration was higher in the nonLDLR/nonAPOB group than in the FH group owing to a higher frequency of subjects with hyperLp(a). When subjects with hyperLp(a) were excluded from the calculations, no differences were found between ADH groups, but the Lp(a) level remained higher than control values. Variably elevated Lp(a) levels have been described in subjects with FH or FDB (Bowden et al 1994; Ejarque et al 2004; Jenner et al 1993; Kraft et al 2000). Our FH group showed median Lp(a) values that were similar to (Ejarque et al 2004) or higher than (Elisaf et al 1996; Kraft et al 2000) those reported in other studies. The reason for elevated Lp(a) levels in FH is not completely understood. Some authors suggested that this was due to an increased production rate of Lp(a), which also involves fatty acid metabolism (Nassir et al 1998; Rader et al 1995), while earlier studies considered that FH subjects had a slow catabolic rate of Lp(a) particles, similar to that of Lp(a)-free LDL particles (Mbewu et al 1991; Utermann et al 1989; Wiklund et al 1990). The fact that Lp(a) levels are higher than control values in both the FH and the nonLDLR/nonAPOB groups suggests that these two types of genetic hypercholesterolaemia share a common mechanism for hyperLp(a).

Lastly, the presence of hyperLp(a) in subjects with ADH would not appear to confer on them a high risk of early-onset CHD; however, both the Lp(a) concentration and the frequency of subjects with hyperLp(a) tended to be higher in patients with premature CHD than in those without, independently of the cause of ADH. An association of high Lp(a) levels and atherogenesis in the general population has been described in some studies (Ariyo et al 2003; Gaw et al 2005; Kronenberg et al 1999; Morita et al 2006), but not in others (Cantin et al 1998; Grebe et al 2007). A meta-analysis of prospective studies concluded that subjects in the top third of baseline Lp(a) levels are at increased risk for CHD compared with those in the bottom third (Danesh et al 2000). The significance of Lp(a) as a risk factor in subjects with FH is unclear. Studies in different FH populations have found that the Lp(a)

level either was (Holmes et al 2005; Hopkins et al 2001; Jansen et al 2004) or was not (Bowden et al 1994; Neil et al 2004) an independent predictor of cardiovascular risk. The mechanism of increased atherogenesis associated with Lp(a) is not fully understood, but is probably related to multiple mechanisms that include impaired fibrinolysis due to the interference of apo(a) with the physiological functions of plasminogen in the fibrinolytic cascade, increased cholesterol deposition in the arterial wall, and enhanced oxidation of LDL cholesterol (Jenner et al 1993).

A limitation of our study is that we did not investigate *PCSK9* mutations as a potential cause of ADH. However, recent reports indicate that the frequency of *PCSK9* defects is <2% in nonLDLR/nonAPOB subjects (Allard et al 2005; Graham et al 2005), which makes it improbable that any such cases were present in our series. On the other hand, we did not investigate the Lp(a) isoforms in all or some ADH families because Lp(a) plasma levels have an inverse correlation with the Lp(a) isoforms (Utermann 2001) and could possibly surrogate the Lp(a) phenotype from the plasma Lp(a) concentration.

In summary, we have demonstrated that some forms of ADH are due to hyperLp(a), thus obviating the need for studies of the *LDLR* and *APOB* genes looking for causative mutations. FH and nonLDLR/nonAPOB groups have higher Lp(a) concentrations than controls. HyperLp(a) is not a clear risk factor for early-onset CHD in subjects with ADH, independently of whether genetic defects have or have not been demonstrated.

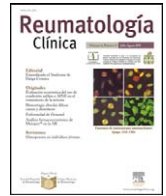
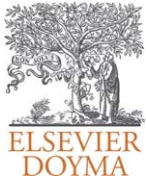
Acknowledgement This work was supported by grants from the Spanish Ministry of Health (Fondo de Investigaciones Sanitarias) FIS 03/1106, CP03/00133, RT/G03–181, CP03/00132.

References

- Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al (2003) Mutations in *PCSK9* cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* **34**: 154–156.
- Allard D, Amsellem S, Abifadel M, et al (2005) Novel mutations in the *PCSK9* gene cause variable phenotype of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Hum Mutat* **26**: 497–507.
- Ariyo AA, Thach Ch, Tracy R, for the Cardiovascular Health Study Investigators (2003) Lp(a) lipoprotein, vascular disease, and mortality in the elderly. *N Engl J Med* **349**: 2108–2115.
- Berg K (1963) A new serum type system in man: the Lp system. *Acta Pathol Microbiol Scand* **59**: 369–382.
- Bhatnagar D, Morgan J, Siddiq S, Mackness MI, Miller JP, Durrington PN (2000) Outcome of case finding among relatives of patients with known heterozygous familial hypercholesterolaemia. *BMJ* **321**: 1–5.

- Bowden JF, Pritchard PH, Hill JS, Frohlich JJ (1994) Lp(a) concentration and apo(a) isoform size. Relation to the presence of coronary artery disease in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **14**: 1561–1568.
- Cantin B, Gagnon F, Moorjani S (1998) Is lipoprotein(a) an independent risk factor for ischemic heart disease in men? The Quebec Cardiovascular Study. *J Am Coll Cardiol* **31**: 519–525.
- Castillo S, Tejedor D, Mozas P, et al (2002) The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* **165**: 127–135.
- Dahlen GH (1990) Incidence of Lp(a) among population. In: Scanu AM, ed. *Lipoprotein(a)*. New York: Academic Press, 151–173.
- Dahlen GH (1992) Potential significance of Lp(a) lipoprotein: clinical and methodological aspects. In: Bearn AG, eds. *Genetics of Coronary Heart Disease*. Oslo: Institute of Medical Genetics, University of Oslo, 75–88.
- Damgaard D, Larsen ML, Nissen PH, et al (2005) The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis* **80**: 155–160.
- Danesh J, Collins R, Peto R (2000) Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* **104**: 1108–11013.
- Ejarque I, Real JT, Ascaso JF, et al (2004) Estudio de los valores plasmáticos de Lp(a) en el defecto familiar de unión de la apo B 100 en una población mediterránea del sur de Europa. *An Med Int (Madrid)* **21**: 322–325.
- Elisaf M, Bairaktari H, Siamopoulos KC (1996) Lp(a) levels in Greek patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Int J Cardiol* **53**: 314–316.
- Gaw A, Murray HM, Brown EA, the PROSPER Study Group (2005) Plasma lipoprotein(a) [Lp(a)] concentrations and cardiovascular events in the elderly: evidence from the prospective study of pravastatin in the elderly at risk (PROSPER). *Atherosclerosis* **180**: 381–388.
- Gomez-Gerique JA, Gutierrez-Fuentes JA, Montoya MT, et al (1999) Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (Diet and Risk of Cardiovascular Disease in Spain) study. DRECE study group. *Med Clin (Barc)* **13**: 730–735.
- Graham CA, McIlhatton BP, Kirk CW, et al (2005) Genetic screening protocol for familial hypercholesterolemia which includes splicing defects gives an improved mutation rate. *Atherosclerosis* **182**: 331–340.
- Grebe MT, Schoene E, Schaefer CA, et al (2007) Elevated lipoprotein(a) does not promote early atherosclerotic changes of the carotid arteries in young, healthy adults. *Atherosclerosis* **190**: 194–198.
- Hadfield SG, Humphries SE (2005) Implementation of cascade testing for the detection of familial hypercholesterolaemia. *Curr Opin Lipidol* **16**: 428–433.
- Heath K, Day IN, Humphries SE (2000) Universal primer quantitative fluorescent multiplex (UPQFM) PCR: a method to detect major and minor rearrangements of the low density lipoprotein receptor gene. *J Med Genet* **37**: 272–280.
- Holmes DT, Schick BA, Humphries KH, Frohlich J (2005) Lipoprotein(a) is an independent risk factor for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Clin Chem* **51**: 2067–2073.
- Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC (2001) Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* **87**: 547–553.
- Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, et al (2004) The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. *J Intern Med* **256**: 482–490.
- Jenner JL, Ordovas JM, Lamon-Fava S, et al (1993) Effects of age, sex, and menopausal status on plasma lipoprotein(a) levels. The Framingham Offspring Study. *Circulation* **87**: 1135–1141.
- Kastelein JJP, Fouchier SW, Defesche JC (2005) What promise does PCSK9 hold? *JACC* **45**(10): 1620–1621.
- Kraft HG, Lingenhel A, Raal FJ, Hohenegger M, Utermann G (2000) Lipoprotein(a) in homozygous familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20**: 522–528.
- Kronenberg F, Kronenberg MF, Kiechl S, et al (1999) Role of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotype in atherosclerosis. Prospective results from the Bruneck Study. *Circulation* **100**: 1154–1160.
- Li KM, Wilcken DEL, Dudman NPB (1994) Effect of serum lipoprotein(a) on estimation of low-density lipoprotein cholesterol by the Friedwald formula. *Clin Chem* **40**: 571–573.
- Marcovina SM, Albers JJ, Wijsman E, Zhang Z, Chapman NH, Kennedy H (1996) Differences in Lp[a] concentration and apo[a] polymorphs between black and white Americans. *J Lipid Res* **37**: 2569–2585.
- Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S (2003) Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease: Recent advances and future directions. *Clin Chem* **49**: 1785–1796.
- Mbewu AD, Bhatnagar D, Durrington PN, et al (1991) Serum lipoprotein(a) in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia, their relatives, and unrelated control populations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **11**: 940–946.
- Merino-Ibarra E, Castillo S, Mozas P, et al (2005) Screening of APOB gene mutations in subjects with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Hum Biol* **5**: 663–673.
- Morita Y, Himeno H, Yakuwa H, Usui T (2006) Serum lipoprotein(a) level and clinical coronary stenosis progression in patients with myocardial infarction. Re-revascularization rate is high in patients with high Lp(a). *Circ J* **70**: 156–162.
- Nassir F, Bonen DK, Davidson NO (1998) Apolipoprotein(a) synthesis and secretion from hepatoma cells is coupled to triglyceride synthesis and secretion. *J Biol Chem* **273**: 17793–17800.
- Neil HA, Seagroatt V, Betteridge DJ, et al (2004) Established and emerging coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Heart* **90**: 1431–1437.
- Pocovi M, Civeira F, Alonso R, Mata P (2004) Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med* **4**: 67–74.
- Rader DJ, Mann WA, Cain W, et al (1995) The low density lipoprotein receptor is not required for normal catabolism of Lp(a) in humans. *J Clin Invest* **95**: 1403–1408.
- Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH (2003) Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* **111**: 1795–1803.
- Tejedor D, Castillo S, Mozas P, et al (2005) Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem* **51**: 1137–1144.
- Utermann G, Hoppichler F, Dieplinger H, Seed M, Thompson G, Boerwinkle E (1989) Defects in the low density

- lipoprotein receptor gene affect lipoprotein (a) levels: multiplicative interaction of two gene loci associated with premature atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **86**: 4171–4174.
- Utermann G (2001) *Lipoprotein(a)*. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds; Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, assoc. eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th edn. New York: McGraw-Hill, 2753–2787.
- White AL, Hixson JE, Rainwater DL, Lanford RE (1994) Molecular basis for ‘null’ lipoprotein(a) phenotypes and the influence of apolipoprotein(a) size on plasma lipoprotein(a) level in the baboon. *J Biol Chem* **269**: 9060–9066.
- Wiklund O, Angelin B, Olofsson SO, et al (1990) Apolipoprotein(a) and ischaemic heart disease familial hypercholesterolaemia. *Lancet* **335**: 1360–1363.



Formación médica continuada

Artritis reumatoide: ¿cómo usar los fármacos en el embarazo y la lactancia?☆

Erardo Meriño-Ibarra* y Concepción Delgado Beltrán

Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 24 de octubre de 2010

Aceptado el 21 de noviembre de 2010

On-line el 4 de mayo de 2011

Palabras clave:

Artritis reumatoide

Inmunosupresores

Embarazo

Lactancia

R E S U M E N

La artritis reumatoide es una enfermedad que tiene una alta prevalencia en mujeres en edad fértil. Se realiza una revisión de las características de la barrera placentaria, el paso de medicamentos a través de ella y del uso de fármacos durante el embarazo: los que son potencialmente seguros, los fármacos que sólo pueden ser usados si la vida materna se ve comprometida, los fármacos que están contraindicados y aquellos con información insuficiente sobre seguridad y que por tanto deben ser evitados, en este último grupo se ubican los fármacos biológicos. También se realiza una revisión acerca del uso de fármacos durante la lactancia, periodo en el cual es frecuente un rebrote de la artritis reumatoide.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Keywords:

Rheumatoid arthritis

Immunosuppressive agents

Pregnancy

Lactation

Rheumatoid arthritis: How to use drugs during pregnancy and lactation?

A B S T R A C T

Rheumatoid arthritis is a disease that is highly prevalent in women of childbearing age. A review is done about the characteristics of the placental barrier, the passage of drugs through it and the use of drugs during pregnancy: those which are potentially safe drugs, those drugs that can only be used if there is a life threatening condition for the mother, drugs that are contraindicated and those with insufficient data on safety and therefore should be avoided, the latter group comprises biological drugs. Also a review is done about the use of drugs during lactation, a period that a flare of rheumatoid arthritis can occur.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad que afecta aproximadamente al 1% de la población general, de ellos la mayoría son mujeres y una gran parte de éstas se encuentran en edad reproductora¹, por tanto la coincidencia de AR y embarazo no resulta un hallazgo infrecuente. El manejo de la AR durante este periodo es complicado; no obstante la actividad de la enfermedad mejora sustancialmente durante el embarazo¹⁻³, pero la remisión completa se producirá en alrededor del 16% de las pacientes²; en aquellas que presenten una actividad de su enfermedad leve o moderada al iniciar la gestación se producirá mejoría en más del 48% de los casos³. Sin embargo, el 39% puede sufrir un brote de la enfermedad durante el parto³ y la artritis aguda estará presente

en el 10-20% de las pacientes en algún momento del embarazo⁴. El pronóstico del embarazo en gestantes con AR bien controladas es comparable al de la población general¹.

La AR es una enfermedad patogénicamente más ligada a la inmunidad celular (Th1) que a la humoral (Th2). La reducción de la actividad inflamatoria en la AR durante la gestación parece relacionada con el incremento en la actividad Th2 que tiene lugar durante el embarazo, con aumento de citoquinas como la IL-4 e IL-10, que podrían ser inmunosupresoras en la AR. Otros mecanismos pueden ser la disminución de la función de polimorfonucleares en el líquido sinovial por la alfafetoproteína⁵, el incremento del número de receptores del TNF- α y el incremento de los niveles plasmáticos del antagonista del receptor de IL-1⁶.

Algunos datos sugieren que la mejoría de la actividad de la AR durante el embarazo depende de la disparidad HLA entre la madre y el feto, a mayor disparidad mayor posibilidad de remisión de la enfermedad⁷.

Por otra parte, la lactancia parece favorecer la aparición de brotes de AR³: la mayoría de las mujeres con AR tiene un brote de la enfermedad durante el parto, generalmente en los 3 primeros

☆ Nota: Sección acreditada por el SEAFORMEC con 1,7créditos.

Consulta pregúntala en cada artículo en: URL: <http://www.reumatologiaclinica.org>.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: erardomerino@gmail.com (E. Meriño-Ibarra).

Tabla 1

Clasificación de los fármacos útiles en la artritis reumatoide según riesgo/beneficio durante el embarazo.

Categorías de riesgo	Fármacos	Clasificación FDA
Potencialmente seguros durante el embarazo.	AINE ^a , corticoides, azatioprina y 6-mercaptopurina, sulfasalazina, antipalúdicos, inmunoglobulinas IV, ciclosporina y tacrolimus	B, C, D
Pueden ser usados si la vida materna se ve comprometida	Ciclofosfamida, clorambucilo y sales de oro	C, D
Información insuficiente sobre seguridad, deben ser evitados	Fármacos biológicos	B, C
Contraindicados	Metotrexato, leflunomida y micofenolato	D, X

AINE: fármacos antiinflamatorios no esteroideos; FDA: Food and drug administration.

meses¹. La causa de este comportamiento no se conoce, pero puede estar relacionada con el efecto proinflamatorio de la prolactina⁷.

Embarazo

Placenta y barrera placentaria

La función de la placenta es la nutrición fetal (aunque durante las primeras semanas es de origen trofoblástica), el intercambio de gases, la excreción de productos de desecho fetales y otras funciones tipo hormonal e inmunológica^{8,9}.

En la placenta madura, la sangre fetal llega a través de dos arterias umbilicales, avanza por los capilares de las vellosidades y regresa al feto por la vena umbilical. Por otro lado, el flujo sanguíneo materno procede de las arterias uterinas, penetra en los senos maternos que rodean las vellosidades y retorna a ella por las venas maternas⁹.

La barrera placentaria está compuesta por las vellosidades coriónicas (sangre fetal) y las lagunas trofoblásticas (sangre materna) y entre ambos sistemas vasculares una capa de células trofoblásticas y tejido conjuntivo, este último se irá adelgazando en la medida que progresa el embarazo y envejezca la placenta⁹.

La transferencia placentaria está regulada por factores anatómicos, fisiológicos y bioquímicos como ejemplo, grosor de la barrera, presión hidrostática, flujo sanguíneo a ambos lados de la barrera y metabolismo placentario^{8,10}.

Mecanismos de transferencia placentaria¹⁰:

1. Difusión simple y facilitada.
2. Transporte activo.
3. Pinocitosis y fagocitosis.

La mayoría de los fármacos atraviesan la barrera placentaria por difusión simple y algunos como los corticoides lo hacen por difusión facilitada^{8,10}.

Clasificación y revisión de los fármacos usados en el embarazo

La Food and Drug Administration (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos clasifica los fármacos según el riesgo que comporta para su uso en el feto, basado en estudios que comports en humanos, en 5 grupos: A, B, C, D y X. En esta revisión clasificaremos los fármacos para su uso en el embarazo según una valoración de riesgo-beneficio con relación al embarazo-artritis reumatoide (tabla 1)¹¹.

Fármacos potencialmente seguros durante el embarazo (categoría B, C, D, FDA)

Los fármacos que a continuación mencionaremos pueden utilizarse durante el embarazo con cierto nivel de seguridad. No obstante, hay reportes de casos en los cuales se asocian con algunas malformaciones congénitas, se irán exponiendo separadamente.

- Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE): en principio son fármacos seguros pero la administración de AINE durante el embarazo se ha asociado a gastrosquisis (ibuprofeno)¹², malformaciones cardíacas y paladar hendido, esto último ligado al uso de naproxeno¹³. No deben administrarse después de las 32 semanas de embarazo por la posibilidad de cierre temprano del ductus arterioso con hipertensión pulmonar, además de otras malformaciones como disgenesia renal, enterocolitis necrotizante y lesiones quísticas cerebrales con hemorragias intraventriculares¹⁴, en esta etapa del embarazo la FDA los clasifica en el grupo D.

Recientemente se ha publicado un posible efecto negativo del meloxicam sobre el cierre del tubo neural; este estudio se ha realizado en embriones de pollo, con dosis supratóxicas del fármaco y los autores concluyen que se requieren estudios adicionales con dosis más bajas¹⁵.

- Corticoides: los más comúnmente usados son la prednisona, la prednisolona y la metilprednisolona dentro de los corticoides de acción corta y la dexametasona y la betametasona dentro de los corticoides fluorados de acción prolongada. Los segundos alcanzan grandes concentraciones en el feto, por lo que se utilizan para acelerar la maduración fetal y en caso de administrar a embarazadas con AR para el control de su enfermedad es preferible la frecuentemente la prednisona, la prednisolona y la metilprednisolona que, aunque atraviesan la barrera placentaria, no alcanzan grandes concentraciones en el feto¹⁶.

Con la exposición intraútero a corticoides fluorados debe considerarse administrar tratamiento esteroideo posnatal⁴.

El consumo de corticoides se ha asociado en el niño a paladar hendido (si se usa en el primer trimestre y sobre todo a dosis mayores de 15 mg/kg de peso corporal por día), rotura prematura de membranas, retardo del crecimiento intrauterino y parto pretérmino y en la madre: hipertensión, diabetes gestacional, infección y osteoporosis^{4,17}.

- Sulfasalazina: pertenece a un grupo de sustancias antagonistas del ácido fólico y puede producir paladar fisurado, anomalías cardíacas (defectos septales) y también alteraciones de la hematópoyesis^{18,19}. En caso de utilizar este fármaco debe administrarse suplementos de ácido fólico¹⁸.

En el sexo masculino puede producir esterilidad reversible²⁰ y hay muy poca información sobre teratogenicidad.

- Antipalúdicos: el uso de hidroxiquina no ha demostrado diferencias con respecto a las embarazadas normales en cuanto a pronóstico y complicaciones del embarazo²¹. Se ha descrito relación con malformaciones en el borde libre de las orejas en pacientes con malformaciones en el borde libre de las orejas en pacientes con AR; sin embargo, en otras situaciones patológicas como el lupus eritematoso sistémico, el uso de estos fármacos se ha relacionado con bajo peso al nacer, prematuridad, ictericia, distrés respiratorio y alteraciones cromosómicas^{19,22}. Clasificado como D por la FDA.

- Ciclosporina: la prevalencia de malformaciones congénitas no difiere de lo esperado en la población gestante normal, pero se ha asociado a bajo peso al nacer, malformaciones congénitas sin patrón definido, así como HTA y diabetes gestacional^{16,23}.
- Tacrólimus: las evidencias de sus efectos sobre el embarazo no provienen de pacientes con AR, sino sobre todo de pacientes trasplantados y el artículo más recurrido corresponde a Kainz et al (2000), en el cual no encuentran efectos negativos de esta droga sobre el embarazo²⁴.
- Inmunoglobulinas IV: atraviesa la barrera placentaria a partir de 2.º trimestre y sobre todo en el 3.º trimestre (32 semanas). Es posible la transmisión de hepatitis C y la producción de anemia hemolítica en el neonato^{16,19}.

Fármacos que pueden ser usados si la vida materna se ve comprometida (Categoría C, D, FDA)

- Ciclofosfamida: la embriopatía por ciclofosfamida varía según el momento del embarazo en el cual se utilice el fármaco y el riesgo de teratogenicidad es mayor en el primer trimestre¹⁵. La embriopatía consiste en alteraciones en la calota craneal, estructuras craneofaciales, oídos, extremidades y órganos viscerales, además de retardo del crecimiento^{19,25}.
- Clorambucilo: la exposición a este fármaco puede producir agenesia/hipoplasia renal y defectos en la formación ósea¹⁶.
- Sales de oro: fármaco en desuso para el tratamiento de la AR. Toxicidad fetal poco probable. Un reciente estudio considera estos fármacos como una posible opción para mujeres con AR que planifican embarazo²⁶.

Fármacos contraindicados (Categoría D, X, FDA)

- Metotrexato: este fármaco se distribuye ampliamente en los tejidos maternos y persiste en el hígado cerca de 4 meses después de la exposición¹⁶. El periodo más vulnerable para el uso del metotrexato se encuentra entre la semanas 5 y 8 de gestación, pero también se han producido malformaciones fetales después de la 11 semana⁴. Este fármaco es abortivo, puede producir retardo del crecimiento fetal, alteraciones en la osificación del cráneo, arcos supernumerarios hipoplásicos, implantación baja de las orejas, micrognatia y alteraciones en las extremidades^{4,19}. La probabilidad de malformaciones fetales es dependiente de la dosis¹⁴.
- Leflunomida: su metabolito activo (teriflunomida) permanece detectable hasta 2 años¹⁶. Los datos de malformaciones congénitas en humanos son escasos y un reciente estudio evaluó las consecuencias del uso de leflunomida en 64 mujeres embarazadas y no encontró alteraciones significativas que sugieran un incremento del riesgo de efectos adversos en aquellas embarazadas que se sometieron al procedimiento de «lavado» del metabolito activo de la leflunomida con colestiramina²⁷. Este procedimiento se lleva a cabo después de la suspensión del fármaco y consiste, tanto en mujeres como en varones, en la administración de 8 g de colestiramina 3 veces al día durante 11 días, como alternativa se puede utilizar 50 g de carbón activo en polvo, 4 veces al día, durante 11 días. Adicionalmente debe medirse los niveles plasmáticos del metabolito activo de la leflunomida (A771726) a través de un programa para la detección de estos niveles plasmáticos, para cuyo procedimiento debemos ponernos en contacto con el representante de la casa comercial del fármaco, quien nos aportará instrucciones para el procesado y envío de las muestras. En cualquier caso, para permitir la gestación es necesario que se utilicen medias concentraciones del metabolito superiores a 0,02 mg/l mediante la realización de dos análisis separados por 14 días.
- Micofenolato: probablemente produce un fenotipo característico con labio y paladar fisurado, microtia y alteraciones en el

conducto auditivo externo²⁸, además de otras malformaciones congénitas¹⁹.

Fármacos con información insuficiente sobre seguridad, deben ser evitados (Categoría B, C, FDA)

En este grupo ubicamos los fármacos biológicos. Las evidencias del uso de fármacos biológicos durante el embarazo son escasas y dispersas y los estudios realizados carecen de grupo control. La FDA clasifica, de forma general, a los anti-TNF en la categoría B.

Los reportes de uso de anti-TNF, especialmente infliximab, durante la gestación sugieren que en caso necesario y consensuado con la paciente podrían utilizarse estos fármacos, pues parece que el beneficio supera al riesgo y por otro lado no sería una condición suficiente para la interrupción del embarazo^{29,30}.

- Etanercept: se ha relacionado con un conjunto específico de malformaciones congénitas conocidas por el recurso mnemotécnico de VACTERL: V-anomalías vertebrales; A-atresia anal; C-defectos cardíacos (septo ventricular); TE- fístula traqueoesofágica; R-anomalías renales; L- alteración en extremidades (displasia radial)¹⁶. Las evidencias no son consistentes en cuanto a la producción de estas malformaciones congénitas³¹, recientemente se ha reportado una gestante con AR que recibió etanercept durante todo el embarazo sin presentar complicaciones³².
- Infliximab: el estudio más importante involucra 131 embarazadas en exposición directa. Los resultados no difieren de los esperados en las gestantes no expuestas³³.
- Adalimumab: algunas series reportan abortos, partos pretérmino, displasia de cadera o ausencia de malformaciones estructurales y problemas durante el embarazo³⁴.
- Golimumab: no hay datos disponibles.
- Certolizumab: realizando una búsqueda en *pubmed* con palabras clave para la búsqueda «MESH: certolizumab and pregnancy», aparece un único artículo en una paciente con enfermedad de Crohn que utilizó el fármaco durante el 1.º y el 3.º trimestre, la descendencia fue normal³⁵.
- Anakinra: no hay datos en humanos.
- Rituximab: en madres que han usado este fármaco se reduce la concentración de linfocitos B en el niño con recuperación rápida y sin aparentes consecuencias. Los reportes de complicaciones hematológicas, partos pretérmino o infecciones severas no son concluyentes en cuanto a su relación con este fármaco³⁶.
- Abatacept: No hay estudios en humanos de exposición al fármaco.

Manejo de la artritis reumatoide antes y durante el embarazo

En una situación ideal en pacientes con AR que planifican su embarazo nos encontraremos con dos opciones (fig. 1): enfermedad temprana o activa y enfermedad estable o en remisión. En el primer caso debemos posponer el embarazo hasta conseguir la remisión o estabilidad de la enfermedad con los fármacos disponibles sin distinción, con excepción de la leflunomida. Una vez que se alcance la remisión, se suspenden los fármacos incompatibles con el embarazo, se espera el tiempo recomendable para cada uno de ellos (tabla 2) y se ajusta el tratamiento con fármacos compatibles con el embarazo⁴.

En caso de reagudizaciones de la enfermedad, el tratamiento dependerá del tipo de reagudización (tabla 3): artritis aguda en una o más articulaciones; infiltración y/o AINE; dolor; paracetamol que a dosis de hasta 4 g/día es seguro durante el embarazo; reagudización sistémica: corticoides (dosis < 15 mg/día en el 1.º trimestre), antipalúdicos (preferible hidroxiquina), azatioprina (dosis < 2 mg/día), ciclosporina (monitorizar/controlar

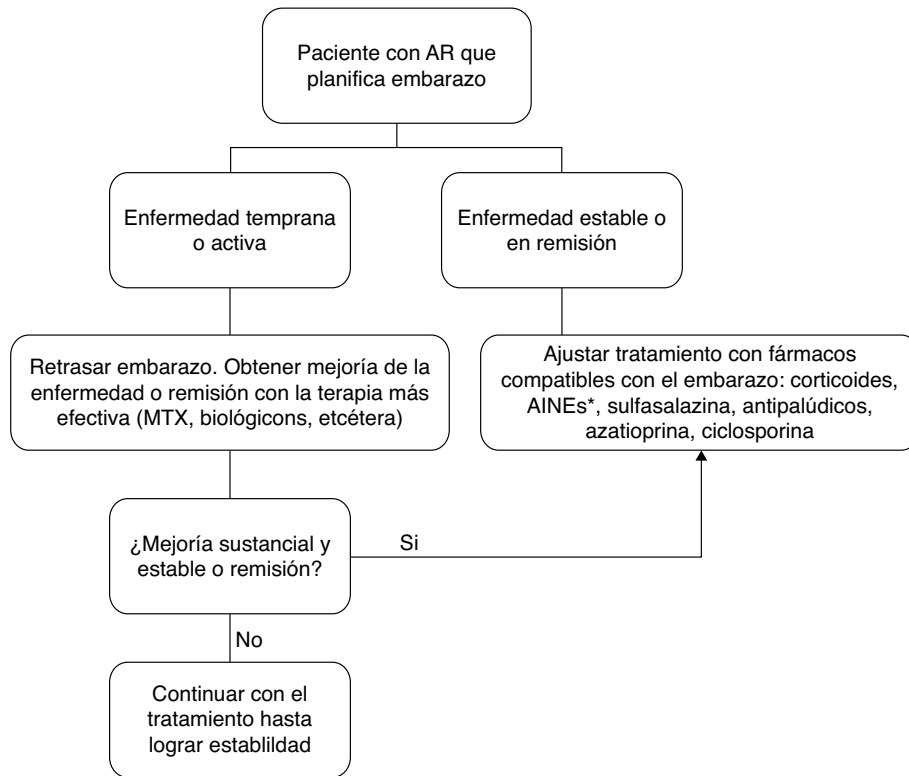


Figura 1. Algoritmo para el manejo del embarazo en pacientes con artritis reumatoide. AINE: fármacos antiinflamatorios no esteroideos; AR: artritis reumatoide; MTX: metotrexato. *Suspender antes de las 32 semanas.

Fuente: tomado y con permiso de: Østensen y Förger⁴.

Tabla 2

Tiempo de espera para algunos fármacos antes de la concepción.

Fármaco	Recomendación
Metotrexato	Suspender 3 meses antes de la concepción
Leflunomida	Suspender cuando se planifique el embarazo y realizar lavado con colestiramina o carbón activo, después de lo cual y cuando el metabolito activo sea <0,02 mg/dl: esperar 1,5 meses para las mujeres y 3 meses para los varones
Abatacept	Suspender 10 semanas antes de la concepción
Rituximab	Suspender 12 meses antes de la concepción
Infliximab	Suspender a la primera falta o después del test positivo
Etanercept	Suspender a la primera falta o después del test positivo
Adalimumab	Suspender a la primera falta o después del test positivo

Fuente: tomado y con permiso de: Østensen y Förger⁴.

Tabla 3

Tratamiento de las reagudizaciones

Tipo de reagudización	Fármacos compatibles	Precaución
Artritis aguda en 1 o más articulaciones	Corticoides intraarticular, AINE (diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno)	Suspender AINE antes de las 32 semanas de embarazo
Dolor	Paracetamol	1-4 g son seguros durante todo el embarazo Usar ≤ 15 mg diarios en el primer trimestre
Reagudización sistémica	Corticoides orales	Preferible hidroxicloroquina Usar ≤ 2 mg por kg de peso corporal al día
	Antipalúdicos	Monitorizar/controlar la tensión arterial materna
	Azatioprina	Suplementar con ácido fólico
	Ciclosporina	
	Sulfasalazina	

AINE: fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

Fuente: tomado y con permiso de: Østensen y Förger⁴.

la tensión arterial materna), sulfasalazina (suplementar con ácido fólico)⁴.

En pacientes con exposición inadvertida a algunos de los fármacos potencialmente nocivos durante el embarazo, debemos conocer el fármaco en cuestión, la dosis utilizada, la edad gestacional al momento del consumo del fármaco y solicitar ecografías por personal entrenado entre las 11-12 semanas y entre las 18-20 semanas con búsqueda del patrón de malformaciones esperadas según el fármaco empleado, así como amniocentesis o biopsia de vellosidades coriónicas en caso necesario. Con la normalidad de estos estudios, es poco probable que se produzca una patología mayor en el feto⁴.

Lactancia

Durante el embarazo, los estrógenos secretados por la placenta hacen que el sistema ductal de las mamas crezca y se ramifique. Al mismo tiempo el estroma glandular aumenta y se deposita grasa en él. Pero es indispensable el estímulo de la prolactina para que se produzca una lactancia con normalidad⁹.

El paso de fármacos a la leche materna depende de varios factores como, por ejemplo, la unión de éstos a las proteínas plasmáticas (efecto negativo), la liposolubilidad (efecto positivo), el carácter básico del fármaco (efecto positivo), el momento de producción de la leche (ayuno, posprandial) y la farmacocinética, pues los medicamentos que se absorben poco o que tienen un fuerte metabolismo del primer paso son menos problemáticos durante la lactancia¹⁰.

Habitualmente se considera que la «dosis relativa del fármaco» que recibirá el niño no debe exceder el 10% de la relación: dosis que recibirá el niño en la leche (mg) /dosis materna (mg) × 100%, para considerarse seguro. Por ejemplo, los AINE tienen una «dosis relativa» del 1% y por tanto son considerados seguros. La dosis del niño en la leche materna depende de la concentración del fármaco

en la leche y del volumen de leche ingerida (estimado en 0,15 l/kg de peso diario).

Casi todos los fármacos llegan a la leche materna, con excepción de insulinas y heparinas por su peso molecular, generalmente el paso es por difusión pasiva y el uso de cualquier medicación tópica como cremas, spray nasal o inhaladores aportan menor riesgo al lactante que los fármacos administrados por vía sistémica^{10,37}. El aclaramiento de los fármacos con respecto al adulto, especialmente en prematuros³⁷.

Los AINE, azatioprina, 6-mercaptopurina, sulfasalazina, antipalúdicos (evitar en prematuros y recién nacidos de menos de 1 mes) e inmunoglobulinas IV son fármacos compatibles con la lactancia. La lactancia no está contraindicada con el uso de corticoides, pero si la dosis es mayor de 40 mg diarios hay que considerar la lactancia 4 h después del consumo del fármaco. La ciclosporina, tacrolimus, ciclofosfamida, metotrexato, leflunomida, leflunomato, clorambucilo, sales de oro y biológicos no son fármacos compatibles con la lactancia^{16,19}.

Conclusiones

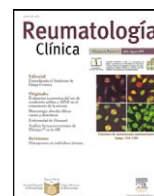
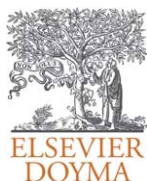
Con frecuencia el embarazo mejora la evolución de la AR, pero una gran parte de las pacientes requerirán algún tipo de tratamiento y en algunas se producirá un brote de la enfermedad, por tanto la decisión de embarazarse en una paciente con AR debe retrasarse hasta conseguir un adecuado control de la enfermedad y una vez conseguido utilizar los fármacos inocuos para el feto. Por su parte, la lactancia es un periodo que favorece la aparición de brotes de AR y muy frecuentemente modificaciones del tratamiento.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Bibliografía

- Bernas BL. Rheumatoid arthritis and pregnancy. En UpToDate, Rose BD, editor. UpToDate. Waltham, MA; 2010.
- Barrett J, Brennan P, Fiddler M, Silman AJ. Does Rheumatoid arthritis remit during pregnancy and relapse postpartum? *Arthritis Rheum.* 1999;45:1219-27.
- de Man YA, Dolhain RJ, van de Geijn FE, Willemsen SP, Hazes JM. Disease activity of rheumatoid arthritis during pregnancy: Results from a Nationwide Prospective Study. *Arthritis Rheum.* 2008;59:1241-8.
- Østensen M, Förger F. Management of RA medications in pregnant patients. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5:382-90.
- Gayed M, Gordon C. Pregnancy and rheumatic diseases. *Rheumatology.* 2007;46:1634-40.
- Østensen M, Forger F, Nelson JL, Schuhmacher A, Hebisch G, Villiger PM. Pregnancy in patients with rheumatic disease: anti-inflammatory cytokines increase in pregnancy and decrease post partum. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:839-44.
- Nelson JL, Kathleen A, Hughes BS, Anajane GS, Smith MA, Nisperos BB, et al. Maternal-fetal disparity in HLA class II alloantigens and the pregnancy-induced amelioration of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 1993;329:466-71.
- Purizaca-Benites M. La placenta y la barrera placentaria. *Rev Per Ginecol Obstet.* 2008;54:270-8.
- Guyton AC, Hall JE. Embarazo y lactancia. En: Guyton AC, Hall JE, editors. *Tratado de fisiología médica.* 11ª ed Barcelona: Elsevier España; 2006. p. 1027-41.
- Ostrea EM, Mantaring 3rd JB, Silvestre MA. Drugs that affect the fetus and newborn infant via the placenta or breast milk. *Pediatr Clin North Am.* 2004;51:539-79.
- Hunt JS. Immunology of the maternal-fetal interface. En UpToDate, Rose BD, editor. UpToDate. Waltham, MA; 2010.
- Torfs CP, Katz EA, Bateson TF, Lam PK, Curry CJ. Maternal medications and environmental exposures as risk factors for gastroschisis. *Teratology.* 1996;54:84-92.
- Ericson A, Källén BAJ. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in early pregnancy. *Reproductive Toxicology.* 2001;15:371-5.
- Calvo Allen J. Tratamiento de situaciones clínicas en pacientes con artritis reumatoide: embarazo. *Reumatol Clin.* 2009;5:48-52.
- Cetinkal A, Colak A, Topuz K, Demircan MN, Simsek H, Berber U, et al. The effects of meloxicam on neural tube development in the early stage of chick embryos. *Turk Neurosurg.* 2010;20:111-6.
- Bernas BL. Use of immunosuppressive drugs in pregnancy and lactation. En UpToDate, Rose BD, editor. UpToDate. Waltham, MA; 2010.
- Park-Wyllie L, Maffzotta P, Pastuszak A, Moretti ME, Beique L, Hunnisett L, et al. Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: prospective cohort study and meta-analysis of epidemiological studies. *Teratology.* 2000;62:385-92.
- Hernandez-Díaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 2000;343:1608-14.
- Østensen M, Khamashta M, Lockshin M, Parke A, Brucato A, Carp H, et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:209-28.
- Moráin CO, Smethurst P, Doré CJ, Levi AJ. Reversible male infertility due to sulphasalazine: studies in man and rat. *Gut.* 1984;25:1078-84.
- Costedoat-Chalumeau N, Amoura Z, Duhaut P, Huong DLT, Sebbough D, Wechsler B, et al. Safety of hydroxychloroquine in pregnant patients with connective tissue diseases. A study of one hundred thirty-three cases compared with a control group. *Arthritis Rheum.* 2003;48:3207-11.
- Nørgård B, Pedersen L, Christensen LA, Sørensen HT. Therapeutic drug use in women with Crohn's disease and birth outcomes: a Danish nationwide cohort study. *Am J Gastroenterol.* 2007;102:1406-13.
- Armenti VT, Ahlswede KM, Ahlswede BA, Jarrell BE, Moritz MJ, Burke JF. National transplantation Pregnancy Registry—outcomes of 154 pregnancies in cyclosporine-treated female kidney transplant recipients. *Transplantation.* 1994;57:502-6.
- Kainz A, Harabacz I, Cowrick IS, Gadgil SD, Hagiwara D. Review of the course and outcome of 100 pregnancies in 84 women treated with tacrolimus. *Transplantation.* 2000;70:1718-21.
- Paladini D, Vassallo M, D'Armiello MR, Cianciaruso B, Martinelli P. Prenatal detection of multiple fetal anomalies following inadvertent exposure to cyclophosphamide in the first trimester of pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2004;70:99-100.
- Almarzouqi M, Scarsbrook D, Klinkhoff A. Gold therapy in women planning pregnancy: Outcomes in One Center. *J Rheumatol.* 2007;34:1827-31.
- Chambers CD, Johnson DL, Robinson LK, Braddock SR, Xu R, Lopez-Jimenez J, et al. Birth outcomes in women who have taken leflunomide during pregnancy. *Arthritis Rheum.* 2010;62:1494-503.
- Pérez-Aytes A, Ledo A, Boso V, Sáenz P, Roma E, Poveda JL, et al. In utero exposure to mycophenolate mofetil: A characteristic phenotype? *Am J Med Genet A.* 2008;146A:1-7.
- Pache I, Rogler G, Felley Ch. TNF- α blockers in inflammatory bowel disease: Practical consensus recommendations and user's guide. *Swiss Med Wkly.* 2009;139:278-87.
- Roux C, Brocq O, Breuil V, Albert C, Euller-Ziegler L. Pregnancy in rheumatology patients exposed to anti-tumour necrosis factor (TNF)- α therapy. *Rheumatology.* 2007;46:695-8.
- Ali YM, Kuriya B, Orozco C, Cush JJ, Keystone EC. Can tumor necrosis factor inhibitors be safely used in pregnancy? *J Rheumatol.* 2010;37:9-17.
- Umeda N, Ito S, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Sumida T. A patient with rheumatoid arthritis who had a normal delivery under etanercept treatment. *Inter Med.* 2010;49:187-9.
- Katz JA, Antoni C, Keenan GF, Smith DE, Jacobs SJ, Lichtenstein GR. Outcome of pregnancy in women receiving infliximab for the treatment of Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99:2385-92.
- Østensen M, Lockshin M, Doria A, Valesini G, Meroni P, Gordon C, et al. Update on safety during pregnancy of biological agents and some immunosuppressive anti-rheumatic drugs. *Rheumatology.* 2008;47:iii28-31.
- Oussalah A, Bigard MA, Peyrin-Biroulet L. Certolizumab use in pregnancy. *Gut.* 2009;58:608.
- Vinet E, Pineau C, Gordon C, Clarke AE, Bernatsky S. Biologic therapy and pregnancy outcomes in women with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2009;61:587-92.
- Ilett KF, Kristensen JH. Drug distribution in human milk. *Aust Prescr.* 1997;20:35-40.



Reumatología Clínica en Imágenes

Mieloma múltiple no secretor

Non secreting multiple myeloma

Berta Magallares López*, Cilia Peralta Ginés, Erardo Meriño Ibarra, José Luis Sierra Monzón y Concepción Delgado Beltrán

Servicio de Reumatología, Hospital Lozano Blesa, Zaragoza, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

On-line el 29 de junio de 2010

Caso clínico

Mujer de 70 años, sin antecedentes de interés, que presentaba dolor costal de 8 meses de evolución, diurno y nocturno, de intensidad progresiva, acompañado de una pérdida ponderal de 8 kgs en los últimos 4 meses. En la exploración se apreció una disminución marcada de la movilidad lumbar con intenso dolor a la palpación de articulaciones condroesternales y rodillas.

El hemograma y la bioquímica fueron normales. VSG: 16 mm/1.ª h. Inmunoglobulinas: IgG 649 mg/dl (690-1400), IgA

118 mg/dl (70-370), IgM 32,8 mg/dl (40-240), IgD <23,3 UI/ml (0-100), IgE 29,5 UI/ml (0-100). Proteínas totales: 7,1 g/dl. Proteinograma (%): Albúmina 61,9, globulinas α 1 4,5, globulinas α 2 12,4, globulinas β 12,4 y globulinas γ 8,8. Inmunoelectroforesis: sangre: Cadenas Kappa 180 mg/dl (200-440), cadenas Lambda 92,7 mg/dl (110-240); orina: cadenas Kappa 6,7 mg/dl, Cadenas Lambda <0,39 mg/dl; conservación del arco de precipitación de IgG, IgA e IgM, equilibrio de cadenas ligeras en suero con mínima eliminación urinaria.

En la radiografía simple se evidenciaron lesiones osteolíticas, sin bordes esclerosos de distintos tamaños y sin destrucción cortical en

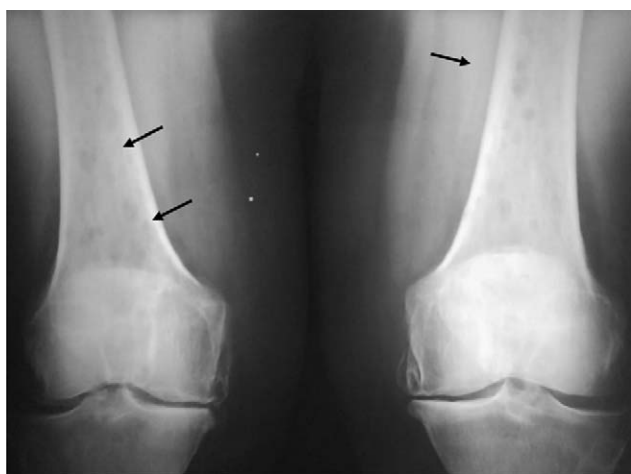


Figura 1. Radiografía simple de rodillas que muestra las lesiones líticas sin bordes esclerosos de distintos tamaños sin destrucción cortical en ambos fémures.



Figura 2. Detalle de radiografía simple de parrilla costal que muestra múltiples lesiones osteolíticas sin actividad osteoblástica visibles en húmero, clavícula y varias costillas.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: berpauma@hotmail.com (B. Magallares López).



Figura 3. Radiografía simple lateral de cráneo que muestra las lesiones en sacabocados características de mieloma múltiple.

fémures (fig. 1), húmeros (fig. 2), parrilla costal, clavículas y cráneo (fig. 3), sin captación gammagráfica (Tc99) de las mismas.

Ante el diagnóstico diferencial de dichas lesiones (mieloma múltiple, metástasis de carcinoma de mama, pulmón, riñón y tiroides, enfermedad granulomatosa, mastocitosis, enfermedad de Gaucher) se realizó un aspirado de médula ósea que mostró una infiltración por células plasmáticas dismórficas del 23% y permitió confirmar el diagnóstico de MM no secretor (tabla 1).

Discusión

El MM no secretor representa alrededor del 1-4% del total de todos los MM¹. Su presentación clínica, supervivencia y respuesta al tratamiento no difieren del MM clásico, aunque sí suele cursar con menor incidencia de insuficiencia renal dado que existe una ausencia de excreción urinaria de cadenas ligeras^{1,2}.

Tabla 1
Criterios diagnósticos de mieloma múltiple⁵

- Presencia de componente M en suero y/o orina más células plasmáticas monoclonales en médula ósea y/o plasmocitoma documentado.
- Más uno o más de los siguientes:
 - Elevación de calcemia (> 11,5 mg/dl)
 - Insuficiencia renal (Creatinina > 2 mg/dl)
 - Anemia (Hemoglobina < 10 g/dl o descenso de 2 g/dl con respecto a base)
 - Enfermedad ósea: lesiones líticas u osteopenia

En pacientes con componente M no detectable, una relación sérica anormal de cadenas ligeras libres puede sustituir y satisfacer este criterio.

Para pacientes sin componente M detectable y relación de cadenas ligeras normal: la médula ósea basal debería presentar > 10% de células plasmáticas clonales (mieloma no secretor)

La gammagrafía ósea con Tc99 tiene poco valor en la evaluación de las lesiones del MM debido a la resorción ósea excesiva-ausencia de actividad osteoblástica que las caracteriza; sin embargo, la gammagrafía con Tc99-sestamibi es un procedimiento alternativo que puede detectar lesiones adicionales³.

El MM no secretor es una patología de gran dificultad diagnóstica por su baja incidencia y escasa expresividad analítica⁴, adquiriendo especial relevancia una prueba tan sencilla y de bajo coste como es la radiografía simple. Por ello debe siempre considerarse en el diagnóstico diferencial del enfermo con dolor óseo persistente, particularmente costal y vertebral, pues se trata de una patología grave cuyo pronóstico mejora con un diagnóstico precoz.

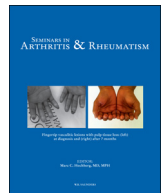
Bibliografía

1. Gutierrez-Macías A, Lizarralde-Palacios E, Arriola-Martínez P, Martínez Odriozola P. Mieloma no secretor. *Gac Med Bilbao*. 2007;104:129-30.
2. Galán F, Pérez R, Carrasco F, Hevías A, Malagón F, Benítez A, et al. Estudio inmunológico y ultraestructural de un mieloma múltiple IgG no secretor. *Rev Clin Esp*. 1985;176:46-8.
3. D'Sa S, Abildgaard N, Tighe J, Hall M. Guidelines for the use of imaging in the management of myeloma. *Br J Haematol*. 2007;137:49-63.
4. Reilly BM, Clarke P, Nikolinakos P. Easy to see but hard to find. *N Engl J Med*. 2003;348:59-64.
5. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006;20:1467-73.



Contents lists available at ScienceDirect

Seminars in Arthritis and Rheumatism

journal homepage: www.elsevier.com/locate/semarthrit

Cardiovascular risk assessment in rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides

The article by Martín-Martínez et al. titled “Recommendations for the management of cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis: Scientific evidence and expert opinion” comes to delving into the EULAR recommendations [1] for the management of cardiovascular risk, making it more complex and probably with less applicability in daily practice.

In my opinion, the evaluation of cardiovascular risk should be easy to perform, because it is aimed to large population groups, for example, subjects with rheumatoid arthritis (RA). The authors suggest, in their first recommendation, to perform a carotid ultrasound or ankle-brachial index in RA patients without clinically evident cardiovascular disease. Both the procedures require special equipment, time, and expertise.

In the second recommendation, the authors introduce new criteria for the assessment of cardiovascular risk, the metabolic syndrome. This syndrome has a different definition: the World Health Organization criteria, the European Group for the Study of Insulin Resistance criteria, the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria, the International Diabetes Federation criteria, and others [2]. Which criteria to use? The waist circumference cutoff is different among some of these criteria; even in a Spanish population, it has been demonstrated that the ATP III criteria had low sensitivity [3]. Finally, doubts have been raised about the existence of metabolic syndrome, if it is a real entity or if it is only a set of several pieces attached to each other [4]. For all these reasons, I think that the introduction of these new criteria for cardiovascular risk assessment in RA subjects is confusing and unnecessary.

A new guideline has been published about the treatment of atherosclerotic blood cholesterol to reduce cardiovascular risk in adults by the American College of Cardiology (ACC) and the American Heart Association (AHA) [5]. The Expert Panel found “extensive and consistent evidence” supporting the benefit of using statins to reduce cardiovascular risk in subjects with LDL-C levels above 70 mg/dL. In total, 4 groups of subjects who would benefit from statin use were identified [5]. These new treatment guidelines show a partial abandonment of cardiovascular risk assessment as has been traditionally done and calls for an attitude aimed at identifying risk groups in whom statin therapy is imperative.

Because cardiovascular risk in RA subjects is similar to diabetes mellitus [6], we should consider that RA subjects, without clinical cardiovascular disease and LDL-C between 70 and 189 mg/dL, are

placed in group 3 of the 4 groups identified by the 2013 ACC/AHA guidelines and should receive statins on a “moderate intensity.” However, subjects with long-standing RA, Rheumatoid factor or anti-CCP positivity, or extraarticular manifestations, who meet at least 2 of these criteria, should be considered for statin use on a “high intensity” [5]. These recommendations can be extended to patients with spondyloarthritis, including psoriatic arthritis [7].

In subjects with inflammatory arthritis, it has been shown that statin use modifies the plasma lipid profile and coronary risk in a similar manner as in subjects without inflammatory arthritis, and this reduction can be extended to RA, spondylitis, and psoriatic arthritis subjects [8].

The cardiovascular risk approach targeting on statin regimen probably saves time and money and ensures that patients are undergoing treatment with statins.

References

- [1] Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:325–31.
- [2] Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 2011;9:48–60.
- [3] Meriño-Ibarra E, Cénarro A, Martín P, García-Otín AL, Goicoechea J, Guallar A, et al. Sensibilidad y especificidad de los criterios del síndrome metabólico para el diagnóstico de insulinorresistencia en la población española. *Med Clin (Barc)* 2007;128:168–71.
- [4] Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2005;28:2289–304.
- [5] Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014;129(25 Suppl. 2):S1–45.
- [6] van Halm VP, Peters MJ, Voskuyl AE, Boers M, Lems WF, Visser M, et al. Rheumatoid arthritis versus type 2 diabetes as a risk factor for cardiovascular disease: a cross-sectional study. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1395–400.
- [7] Peters MJ, van der Horst-Bruinsma IE, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk profile of patients with spondylarthropathies, particularly ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2004;34:585–92.
- [8] Semb AG, Kvien TK, DeMicco DA, Fayyad R, Wun CC, LaRosa JC, et al. Effect of intensive lipid-lowering therapy on cardiovascular outcome in patients with and those without inflammatory joint disease. *Arthritis Rheum* 2012;64:2836–46.

Erardo Meriño-Ibarra, MD

*Rheumatology, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa,
Avenida San Juan Bosco 15, Zaragoza 50009, Spain
E-mail address: erardomerino@gmail.com*

- risión with dynamic magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum.* 2001;44:2018-23.
7. Palazzi C, D'Amico E, De Santis D, Petricca A. Jaccoud's arthropathy of the hands as a complication of pyrophosphate arthropathy. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40:354-5.
 8. Wu Y, Zheng J. Jaccoud's arthropathy and psoriatic arthritis, a rare association. *Rheumatol Int.* 2010;30:1081-3.
 9. Skare TL, Godoi Ade L, Ferreira VO. Jaccoud arthropathy in systemic lupus erythematosus: Clinical and serological findings. *Rev Assoc Med Bras.* 2012;58:489-92.
 10. Yoon HS, Kim KJ, Baek IW, Park YJ, Kim WU, Yoon CH, et al. Ultrasonography is useful to detect subclinical synovitis in SLE patients without musculoskeletal involvement before symptoms appear. *Clin Rheumatol.* 2014;33:341-8.

Carlos Manuel Feced Olmos*, José Ivorra Cortés,
Rosa Negueroles Albuixech
y José Andrés Román Ivorra

Servicio de Reumatología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carlosfeced@gmail.com (C.M. Feced Olmos).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reuma.2014.08.002>

Artritis reumatoide, un nuevo enfoque del riesgo cardiovascular



Rheumatoid arthritis, a new focus on cardiovascular risk

Sr. Editor:

Los sujetos con artritis reumatoide (AR) tienen una mayor prevalencia de los factores de riesgo tradicionales y tienen un 68% más de riesgo de desarrollar infarto cardiaco¹ que la población general, persistiendo este aumento del riesgo aun cuando el análisis se ajusta para los factores de riesgo coronario tradicionales^{1,2}. Las recomendaciones EULAR³ para la valoración del riesgo cardiovascular en sujetos con AR propone la aplicación de modelos de valoración de riesgo, por ejemplo, tipo Framingham. Por otro lado, EULAR recomienda especial atención a los sujetos con AR de larga evolución (más de 10 años), positividad del factor reumatoide o de los anticuerpos anti-PCC y aquellos con presencia de manifestaciones extraarticulares³.

El reumatólogo, en su práctica diaria, debe realizar diferentes índices para diagnóstico, clasificación de riesgo de la enfermedad, progresión radiológica, riesgo de fracturas por fragilidad (FRAX y otros), calidad de vida del paciente, etc., a lo cual sumamos la valoración del riesgo coronario.

Recientemente, se ha publicado la 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines⁴, en la cual se plantea la «extensa y consistente» evidencia acerca del beneficio del uso de estatinas para reducir el riesgo cardiovascular en sujetos con niveles de cLDL por encima de 70 mg/dL. Se identifican 4 grupos de sujetos que se beneficiarían del uso de estatinas: 1) sujetos con enfermedad cardiovascular clínica; 2) sujetos con cLDL \geq 190 mg/dL; 3) diabéticos entre 40-75 años de edad con cLDL entre 70-189 mg/dL y sin enfermedad cardiovascular clínica, y 4) sujetos sin enfermedad cardiovascular clínica o diabetes, con cLDL entre 70-189 mg/dL y un riesgo estimado a 10 años \geq 7,5%⁴.

Dado que la AR tiene un riesgo cardiovascular similar a la diabetes mellitus⁵, que el uso de estatinas aporta un efecto antiinflamatorio, modesto aunque significativo⁶, y que el uso de fármacos antiinflamatorios (coxibs y no coxibs) se asocia a mayor riesgo coronario⁷, proponemos que los sujetos con AR sin enfermedad cardiovascular clínica, con cLDL entre 70-189 mg/dL y sin límite superior para la edad sean considerados en el grupo 3 de los 4 grupos anteriormente identificados, lo cual implica el uso de estatinas en «moderada intensidad»⁴ para la mayoría de los pacientes con AR; no obstante, en sujetos con AR de larga evolución, factor reumatoide/anti-PCC positivos o manifestaciones extraarticulares que cumplan al menos 2 de estos criterios podría considerarse el

uso de estatinas en régimen de «alta intensidad»⁴. Estas recomendaciones pueden extenderse a sujetos con espondiloartritis, incluida la psoriásica⁸.

En sujetos con artropatías inflamatorias se ha demostrado que el uso de estatinas modifica el perfil lipídico plasmático y el riesgo coronario de forma similar que en sujetos con artropatías inflamatorias y esta reducción se extiende a la AR, la espondilitis y la artritis psoriásica⁹; incluso en aquellos sujetos con AR que utilizan estatinas, la interrupción del tratamiento está asociada a un incremento del riesgo de muerte cardiovascular¹⁰.

A pesar de los beneficios en el riesgo cardiovascular que, a nuestro juicio, aportarían las estatinas en sujetos con artropatías inflamatorias, siempre debe tenerse en cuenta la posibilidad de miopatía y sobre todo de hepatotoxicidad que pueden producir en sujetos que además utilizan otros fármacos hepatotóxicos.

En conclusión, recomendamos que todos los sujetos con artropatía inflamatoria, especialmente AR, mayores de 40 años de edad, con cLDL entre 70-189 mg/dL y sin enfermedad cardiovascular clínica reciban estatinas a dosis moderadas y en aquellos con riesgo especialmente alto (con 2 o más de estas condiciones: AR de larga evolución, factor reumatoide/anti-PCC positivos, manifestaciones extraarticulares) reciban estatinas a régimen de alta intensidad.

Bibliografía

1. Avina-Zubieta JA, Thomas J, Sadatsafavi M, Lehman AJ, Lacaille D. Risk of myocardial events in patients with rheumatoid arthritis: A meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:1524-9.
2. Del Rincon ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum.* 2001;44:2737-45.
3. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:325-31.
4. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2014;129 25 Suppl 2:S1-45.
5. van Halm VP, Peters MJ, Voskuyl AE, Boers M, Lems WF, Visser M, et al. Rheumatoid arthritis versus type 2 diabetes as a risk factor for cardiovascular disease: A cross-sectional study. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1395-400.
6. McCarey DW, McClnnes IB, Madhok R, Hampson R, Scherbakov O, Ford I, et al. Trial of Atorvastatin in Rheumatoid Arthritis (TARA): Double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2004;363:2015-21.
7. Trelle S, Reichenbach S, Wandel S, Hildebrand P, Tschannen B, Villiger PM, et al. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Population meta-analysis. *BMJ.* 2011;34:2-52.
8. Peters MJ, van der Horst-Bruinsma IE, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk profile of patients with spondylarthropathies, particularly ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 2004;34:585-92.
9. Semb AG, Kvien TK, DeMicco DA, Fayyad R, Wun CC, LaRosa JC, et al. Effect of intensive lipid-lowering therapy on cardiovascular outcome in patients

- with and those without inflammatory joint disease. *Arthritis Rheum.* 2012;64: 2836-46.
10. De Vera MA, Choi H, Abrahamowicz M, Kopec J, Lacaille D. Impact of statin discontinuation on mortality in patients with rheumatoid arthritis: A population-based study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64: 809-16.

Erardo Meriño-Ibarra*
y Concepción Delgado-Beltrán

Sección de Reumatología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, España

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: erardomerino@gmail.com (E. Meriño-Ibarra).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reuma.2014.09.002>