

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA DE LA UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

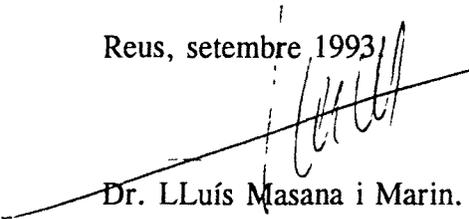
**PEROXIDACIÓN LIPÍDICA Y
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR**

TESIS DOCTORAL
NURÍA PLANA I GIL

Dr. LLUÍS MASANA MARÍN, Catedràtic de Medicina, del Departament de Medicina i Cirurgia, de la Facultat de Medicina, de la Universitat Rovira i Virgili.

AUTORITZA: Com a director de la Tesis Doctoral de la Sra. NURIA PLANA I GIL, de la Facultat de Medicina, de la Universitat Rovira i Virgili, amb el títol " Peroxidación lipídica y factores de riesgo cardiovascular", la seva presentació per a la posterior tramitació.

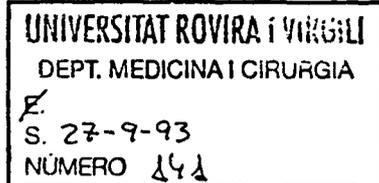
Reus, setembre 1993


Dr. Lluís Masana i Marin.

UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

FAULET DE MEDICINA I CIÈNCIES DE LA SALUT
DEPARTAMENT DE MEDICINA I CIRURGIA

CARRER SANT LLORENÇ, 21
TEL 977 31 89 22
FAX 977 31 91 47
43201 - REUS



Assistents:

L. Masana
J. Vilaplana
J. Salas
C. Martí
C. Richart
J. Margalef
A. Infante
A. Labad
E. Baeta
R. Pla
R. Sola
J.M Sanchez
J.M Olive
M. Hernandez
D. del Castillo
A. Martinez
F. Vidal
P. Sardà
J. Escoda

A la reunió celebrada el dia 21 de setembre de 1993,
els membres del Departament de Medicina i Cirurgia que
es relacionen al marge van examinar el projecte de Tesi
Doctoral presentada per:

NURIA PLANA I GIL

sobre el tema:

PEROXIDACION LIPIDICA Y FACTORES DE RIESGO
CARDIOVASCULARES

Estudi dirigit pel Dr. Lluís Masana Marin

Una vegada examinat el treball realitzat, aquest
Departament considera que reuneix els requisits
suficients per a ésser presentat i defensat davant el
tribunal corresponent, la qual cosa faig constar perquè
en prengueu coneixement i tingui els efectes oportuns.



Lluís Masana

Director del Departament

AGRADECIMIENTOS

A Jordi Maixé y mi hijo Arnau Maixé por su comprensión y ayuda.

A los Drs. Antonio Valero de la Base Aérea de Reus, Antoni Duran del Área Básica de Sant Pere de Reus y Miquel Domenech de la Residencia "Alt Camp de Valls" por su colaboración.

A la Dra. Rosa Solà por su colaboración.

A M^a Teresa Bargalló por sus conocimientos y por su paciencia al iniciarme en las técnicas de laboratorio.

A Jordi Balanyà por su participación en la elaboración estadística de los datos.

A la Dra. Agnes Laville, Mercedes Heras y al resto de los miembros de la U.R.L.

En especial al Prof. Lluís Masana que sin su amistad y su magnífica dirección no hubiera podido realizarse esta tesis.

1. INTRODUCCION.	1
1.1. PATOGENIA DE LA ARTERIOSCLEROSIS.	
1.1.1. Fases del desarrollo de la lesión ateromatosa.	2
1.1.2. Mecanismos patogénicos de la arteriosclerosis.	7
1.1.2.1. Endotelio.	10
1.1.2.2. Monocitos/Macrófagos.	12
1.1.2.3. Células musculares lisas.	13
1.1.2.4. Linfocitos T.	14
1.1.2.5. Plaquetas.	15
1.1.3. Relación entre la oxidación lipoproteica y la patogenia de la arteriosclerosis.	15
1.2. LIPOPROTEINAS Y METABOLISMO LIPOPROTEICO.	
1.2.1. Estructura y composición de las lipoproteínas.	18
1.2.2. Clasificación de las lipoproteínas plasmáticas.	20
1.2.3. Apoproteínas.	22
1.2.4. Receptores para las lipoproteínas.	
1.2.4.1. Receptor Apo B:E.	24
1.2.4.2. Receptor Apo E.	26
1.2.4.3. Receptor HDL.	27
1.2.4.4. Receptor Scavenger.	28
1.2.5. Metabolismo de las lipoproteínas.	32
1.2.5.1. Vía exógena.	32
1.2.5.2. Vía endógena. Transporte centrífugo.	34
1.2.5.3. Vía endógena. Transporte centrípeto.	35
1.2.6. Metabolismo intracelular del colesterol.	37
1.3. OXIDACION LIPOPROTEICA.	
1.3.1. Radicales libres.	41
1.3.2. Radicales libres del oxígeno.	41
1.3.3. Radicales libres en los organismos vivos.	44
1.3.4. Origen intracelular de los radicales libres.	44

1.3.5. Peroxidación lipídica.	47
1.3.6. Malondialdehído.	50
1.3.7. Oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).	53
1.3.8. Antioxidantes.	58
1.4. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.	64
1.4.1. La hipercolesterolemia como factor de riesgo cardiovascular.	64
1.4.1.1. Hiperlipemia, oxidación lipídica y riesgo coronario.	69
1.4.2. La diabetes como factor de riesgo cardiovascular.	72
1.4.2.1. Diabetes, oxidación lipídica y riesgo coronario.	74
1.4.3. La obesidad como factor de riesgo cardiovascular.	77
1.4.4. El tabaco como factor de riesgo cardiovascular.	79
1.4.4.1. Tabaco y oxidación lipídica.	80
2. OBJETIVOS.	82
3. METODOS.	85
3.1. PLANIFICACION GLOBAL DEL ESTUDIO.	86
3.1.1. Intervención farmacológica y dietética.	87
3.1.1.1. Pacientes hipercolesterolémicos.	87
3.1.1.2. Pacientes con obesidad mórbida.	88
3.2. DESCRIPCION DE LOS INDIVIDUOS DEL ESTUDIO.	
3.2.1. Pacientes hipercolesterolémicos.	90
3.2.2. Pacientes diabéticos.	91
3.2.3. Pacientes con obesidad mórbida.	92
3.2.4. Grupo general.	93
3.3. RECOGIDA DE MUESTRAS.	94
3.4. TÉCNICAS DE LABORATORIO.	95

3.4.1. Fraccionamiento lipoproteico.	95
3.4.2. Precipitación selectiva para las HDL.	98
3.4.3. Análisis bioquímicos.	99
3.4.3.1. Medición del colesterol total.	99
3.4.3.2. Medición de los triglicéridos.	100
3.4.4. Medición de la peroxidación lipídica.	
3.4.4.1. Peroxidación en plasma.	100
3.4.4.2. Peroxidación en la fracción LDL.	102
3.5. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS.	104
4. RESULTADOS.	105
4.1. DESCRIPCION DEL GRUPO DE PACIENTES.	106
4.1.1. Datos antropométricos.	106
4.1.2. Concentraciones de lipoproteínas.	108
4.1.3. Valores de oxidación en plasma y en LDL.	115
4.1.4. Correlaciones entre el colesterol plasmático y colesterol LDL con niveles de oxidación en plasma en la fracción LDL.	119
4.2. TABLAS Y FIGURAS.	121
5. DISCUSION.	158
5.1. METODOS UTILIZADOS.	159
5.1.1. Obtención de la muestra.	159
5.1.2. Técnica utilizada como índice de peroxidación lipídica.	163
5.2. RESULTADOS.	166
5.2.1. Valores antropométricos.	166
5.2.2. Concentraciones lipoproteicas.	167
5.2.3. Oxidación lipídica.	171
5.2.3.1. Pacientes hipercolesterolémicos.	171

5.2.3.2. Pacientes diabéticos.	175
5.2.3.3. Pacientes obesas.	179
5.2.3.4. Edad y peroxidación lipídica.	181
5.2.3.5. Tabaco y peroxidación lipídica.	184
6. CONCLUSIONES.	190
7. ANEXOS.	192
8. BIBLIOGRAFIA.	196

1. INTRODUCCION

1.1. PATOGENIA DE LA ARTERIOSCLEROSIS

La arteriosclerosis a través de sus consecuencias clínicas, como la enfermedad cardiovascular, es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los países industrializados (Keys A. 1970).

Lobtein definió en 1940 la arteriosclerosis como un proceso de envejecimiento que sufren las arterias que se caracteriza por el engrosamiento de la íntima, la pérdida de elasticidad y por el incremento en el contenido en calcio (Lobtein J.F. 1940). La aterosclerosis es definida actualmente por la Organización Mundial de la Salud como una combinación variable de acumulación de lípidos, carbohidratos complejos, derivados hemáticos, tejido fibroso y calcio en la íntima de las arterias (World Health Organization 1958).

1.1.1. FASES DEL DESARROLLO DE LA LESION ATEROMATOSA

La arteriosclerosis es un proceso de larga evolución. Las primeras evidencias de este hecho proceden de los estudios realizados en los jóvenes soldados que fallecieron en la guerra de Corea (Enos W.F. et al. 1953) y Vietnam (Mcnamara J.S. et al. 1971), en los que se encontraron lesiones arterioscleróticas en las coronarias.

En la década de los 60 se llevaron a cabo diversos estudios epidemiológicos, basados en la arteriosclerosis en la edad pediátrica, junto con los factores de riesgo vascular en dicha edad. Se pudo constatar en el 17% de las autopsias practicadas en niños menores de cinco años de edad la presencia de lesiones precoces de arteriosclerosis (Glueck C.J. et al. 1978). Es importante destacar que estas lesiones y su grado de desarrollo se correlacionaban con la existencia de los mismos factores de riesgo que los adultos. Ello originó un planteamiento precoz en cuanto a estrategias de prevención (Berenson G.S. et al. 1980). En el estudio Bogalusa se practicó la autopsia a treinta y cinco jóvenes, observándose que la afectación vascular de la aorta con lesiones preateromas oscilaba entre el 1 y el 61%. Se vio que había un mayor grado de desarrollo en relación a la edad así como con las cifras de colesterol total y colesterol LDL e inversamente proporcional a las cifras de colesterol HDL (Berenson G.S. et al. 1980).

No existe un acuerdo definitivo en cuanto la terminología a utilizar. Así, la OMS seleccionó cuatro denominaciones: estría grasa, placa fibrosa, ateroma y lesión complicada (World Health Organization 1958). El International Atherosclerosis Project utilizó solamente tres denominaciones: estría grasa, placa fibrosa y lesión complicada (Guzman M.A. et al. 1968). Otros grupos utilizaron términos como preateroma, fibroateroma, lesión intermedia o placa gelatinosa (Woold N. 1988). La terminología que utilizaré será la usada por Stary y Small

(Stary H.C. 1989), (Small D.M. 1988).

El fenómeno patológico que se observa más precozmente y que sugiere acúmulo lipídico es la presencia de células espumosas de origen macrofágico aisladas en la íntima de la pared arterial, fundamentalmente, en las zonas de engrosamiento excéntrico a nivel de las bifurcaciones de las arterias coronarias. Esta lesión incipiente que representa un acúmulo exclusivamente intracelular de ésteres de colesterol, evoluciona, probablemente, hacia la denominada **ESTRIA GRASA**.

La estría grasa consiste en capas de células con inclusiones lipídicas. Si bien en su mayoría se sitúan intracelularmente pueden también observarse depositadas en la matriz intercelular. Las células con estas inclusiones son principalmente macrófagos y también células musculares lisas; si bien, en la primera etapa no parece existir una proliferación de las mismas, sino una transformación de células ya existentes en dicha zona. Han sido definidas perfectamente las características físico químicas de los lípidos depositados en estas células. En ellas predominan los ésteres de colesterol, principalmente, oleato de colesterol. No existe exceso de colesterol libre con tendencia a precipitar en forma de cristales. Macroscópicamente se caracterizan por su aspecto amarillo, estar ligeramente engrosadas y por estar orientadas longitudinalmente. Las arterias de los sujetos que han finalizado la etapa puberal, presentan unas lesiones similares

a las anteriores pero más evolucionadas. Se denominan **PREATEROMA** o lesión intermedia o transicional. Los términos utilizados indican, que se trata de una lesión que puede situarse en el tiempo, entre la estría grasa y la lesión ateromatosa desarrollada. Son las primeras lesiones que pueden proyectarse a la luz vascular. Su formación parece secundaria al acúmulo de lípidos especialmente colesterol libre aunque también se observan acúmulos de esfingomielina, lisolecitina y triglicéridos. En esta etapa las distintas proporciones de fosfolípidos y colesterol libre permiten que éste, a pesar de su sobresaturación, no forme cristales con lo que la necrosis celular sería escasa.

Al final de la etapa puberal pueden identificarse las primeras lesiones **ATEROMATOSAS MADURAS**. Se observa un importante depósito lipídico extracelular situado en la zona íntima más cercana a la media. El núcleo lipídico clásico de la lesión ateromatosa es el resultado del acúmulo masivo de colesterol libre que forma cristales produciendo la muerte celular. Estos núcleos están rodeados en la zona luminal por macrófagos cargados de lípidos y, en menor cantidad, por células musculares lisas.

El depósito lipídico está compuesto, fundamentalmente, por cristales de monohidrato de colesterol, si bien, también contiene ésteres de colesterol, ácidos grasos, fosfolípidos y triglicéridos. El núcleo de la lesión ateromatosa junto al material lipídico contiene tejido conectivo, restos celulares, sales cálcicas,

glicoproteínas, lipofucsina y otras sustancias. Estos materiales fibrosos son producidos por células musculares lisas, fibroblastos, y de ellos se incorporan plaquetas y fibrina a la íntima arterial. Ello completa la llamada **LESION FIBROATEROMA**.

El trabajo publicado por Stary en 1989 nos muestra como evolucionan en el tiempo estas lesiones. Estudió las arterias aorta y coronarias de 1160 individuos fallecidos entre el nacimiento y los veintinueve años de edad. Entre las observaciones importantes destaca el engrosamiento de tipo excéntrico de la íntima observado en las bifurcaciones de las arterias coronarias, generalmente, situado en la parte opuesta a la zona de división del flujo sanguíneo. Este engrosamiento se compone de dos capas principales: 1- La más interna y principalmente rica en matriz con proteoglicanos. 2- La capa músculo-elástica con un número mayor de fibras elásticas y células musculares lisas. La zona de la capa proteoglicídica inmediatamente por debajo del endotelio suele contener algunas células macrofágicas. El engrosamiento excéntrico de la íntima es la base sobre la que puede desarrollarse las placas ateromatosas (Stary H. 1989). Este mismo estudio nos proporciona una idea de cómo evolucionan las lesiones en función de la edad. Así se observó que en un 32% de los niños menores de tres años la presencia de células espumosas aisladas. Posteriormente, este tipo de lesión irá disminuyendo hasta su nueva aparición al final de la primera década y la pubertad, junto con las estrías grasas, hasta un 60%. Se observó la aparición

de las lesiones preateromatosas y ateromatosa en el 30% de los individuos de veintinueve años. La lesión fibroateromatosa se inicia en la tercera década de la vida.

1.1.2. MECANISMOS PATOGENICOS DE LA ARTERIOSCLEROSIS

A lo largo de la historia han surgido diversas teorías sobre la etiopatogenia de la arteriosclerosis. La primera de ellas fue la de Rokitanski, el cual, postuló la teoría trombogénica de la incrustación. Ésta postulaba que el engrosamiento de la íntima era debido a la deposición de fibrina y posterior organización del trombo y, subsiguiente acumulación de lípidos. Más tarde, Virchow postuló la teoría lipídica. Ésta, en su inicio, sostenía que el depósito de la pared vascular era consecuencia de la trasudación de los lípidos del plasma que junto con los glicosaminoglicanos formaban complejos, siendo los lípidos acumulados, la resultante del predominio de los mecanismos de acumulación sobre los de eliminación. Actualmente estas hipótesis han evolucionado considerablemente. En la patogenia de la aterosclerosis se hallan implicados múltiples factores, jugando un papel muy importante los lípidos plasmáticos.

Ross, en el año 1976, consideró que la ateromatosis era la respuesta a una agresión vascular (Ross R. et al. 1976). El mismo, diez años más tarde, modificó su primera hipótesis. Consideró que la respuesta de la pared vascular era como

consecuencia a la presencia de una serie de agentes nocivos, admitiendo la existencia de varios mecanismos patogénicos que contribuían a la formación de las placas de ateroma (Ross R. 1986). Hace tan sólo uno meses el mismo autor ratificó sus publicaciones anteriores ante el progreso en la identificación de diferentes células y diversas moléculas implicadas en la patogenia de la aterosclerosis.

La disfunción del endotelio vascular, como consecuencia del daño causado por algún agente nocivo, va a originar un aumento en el acúmulo de lipoproteínas en la arteria así como la aparición de glicoproteínas específicas que se adhieren en la superficie de las células endoteliales. Los monocitos y los linfocitos T son atraídos al lugar de la lesión. Posteriormente, se observa la emigración de los mismos entre las células endoteliales como consecuencia de la liberación de sustancias quimio-atrayentes y por la influencia de moléculas reguladoras del crecimiento secretadas ambas por el endotelio lesionado. Este es un proceso continuo, el monocito se transforma en macrófago, en el cual se acumulan lípidos formándose la células espumosas. Éstas, junto con la presencia de linfocitos, originaran la estría grasa. Los factores de crecimiento y las citoquinas actúan sobre la célula jugando un papel muy importante en la regulación de sus funciones. Durante el proceso evolutivo de la aterogénesis pueden actuar sobre ellas induciéndolas a su aglutinación, migración, proliferación, control lipídico y síntesis proteica. Las moléculas reguladoras del crecimiento pueden inducir

múltiples y a la vez efectos aparentemente divergentes. Existen diversas moléculas con capacidad de inducir la proliferación celular: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento básico de los fibroblastos (bFGF), heparin-binding epidermal growth factor-1 (HB-EGF), insulín-like growth factor 1 (IGF-1), interleukina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral α (TNF α) y el factor de crecimiento transformante β (TGF β). Todas ellas inducen a la proliferación de las células musculares lisas. Generalmente no las encontramos en la arteria normal, pero sí, en las lesiones arterioscleróticas (Fig.1).

También existen factores de crecimiento con capacidad mitogénica y quimio-atrayente. La quimiotaxis juega un papel importantísimo en el desarrollo de las lesiones ateromatosas. Este efecto es necesario para atraer los leucocitos hacia pared arterial y para la migración de las células musculares lisas desde la capa media hasta la íntima de la pared arterial. Entre ellos destacamos: factores de estimulación de colonias (CSFs), la proteína 1 quimiotáctil del monocito (MCP-1), la lipoproteína de baja densidad oxidada (oxLDL) y TGF β . Las citoquinas, IL-1, TNF α , interferón (IFN), IL-2 y CSFs son reguladores de la respuesta inflamatoria que ocurre en el endotelio tras su exposición a algún agente nocivo.

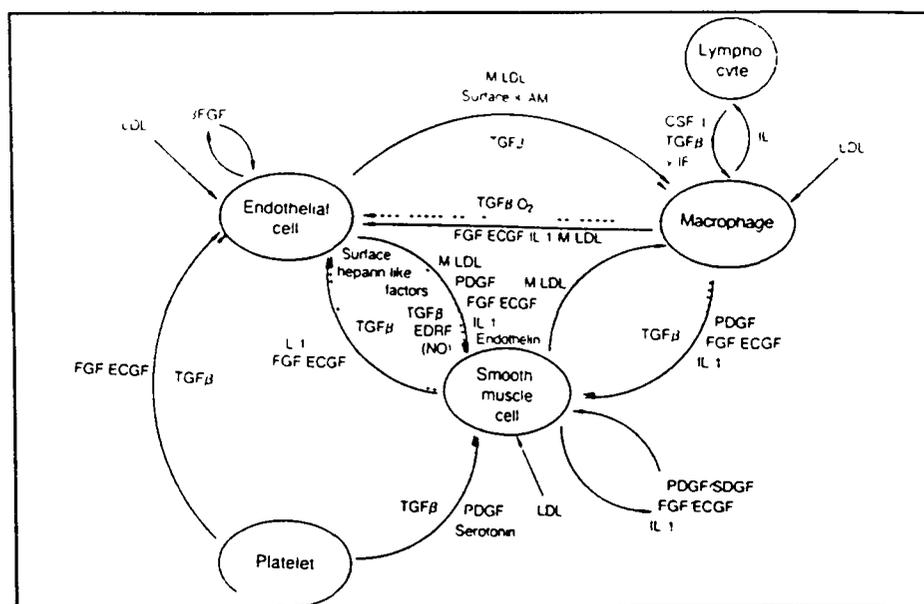


Figura 1. Muestra algunas de las interacciones entre las principales células que intervienen en la formación de la placa de ateroma. Fuster V. 1992.

1.1.2.1. ENDOTELIO

El endotelio interviene en una serie de funciones fisiológicas muy importantes: 1- Impide la trombosis en su superficie. 2- Actúa como barrera permeable en el transporte activo de sustancias hacia la pared arterial. 3- Mantiene el tono vascular de la pared mediante la liberación de sustancias como óxido nítrico (NO), prostaciclina (PGI₂) y endotelina (ET). 4- Interviene en la formación y secreción de moléculas reguladoras del crecimiento y de citoquinas.

5-Mantiene la base de colágeno y proteoglicanos. 6-Previene la adherencia de los leucocitos. 7-Tiene capacidad para modificar (oxidar) las lipoproteínas así como transportarlas al interior de la pared arterial.

Las lipoproteínas LDL tienen gran afinidad por los proteoglicanos ricos en condroitinsulfato (PGCS) de la íntima. Ello origina la formación de complejos y agregados por la interacción de la apo-B₁₀₀ ricas en argininas y lisinas con carga positiva en la superficie de las lipoproteínas con los grupos sulfato y carboxilo con carga negativa de los PGCS. Se cree que la formación de estos complejos sea la causa de la retención focal de las LDL durante el proceso de la aterogénesis (Camejo G. et al. 1993).

Existen evidencias que sugieren que las LDLox son un componente clave en la lesión endotelial. Una vez formada por el endotelio puede dañar directamente al endotelio y originar el incremento de adherencia y migración de los monocitos y linfocitos hacia el espacio subendotelial.

Han sido descritos tres tipos de lesiones a nivel del endotelio: 1- **Lesión tipo I**. En ella se observa una alteración de la función del endotelio pero sin la existencia de cambios morfológicos significativos. 2- **Lesión tipo II**. Se caracteriza por la denudación endotelial y la lesión de la íntima sin llegar a afectar la lámina elástica interna o media. 3- **Lesión tipo III**. Es la más severa, se

observa una exposición de los componentes vasculares profundos del vaso. Hay participación de las plaquetas y trombosis mural (Ip J.H. et al. 1990).

1.1.2.2. MONOCITOS/MACROFAGOS

Los macrófagos se hallan presentes en todos los estadios de la arteriosclerosis. Actúan del siguiente modo: 1-Como célula presentadora de antígenos. 2-Como célula “Scavenger” en la eliminación de las sustancias dañinas. 3-Como secretor de moléculas reguladoras del crecimiento celular y de citoquinas.

El macrófago es la principal célula con capacidad inflamatoria que se encuentra en la placa de ateroma. Los macrófagos a través del receptor Scavenger captan y internalizan las LDLox. Además, el macrófago puede oxidar las LDL por diferentes vías. Durante este proceso tiene lugar la producción de una serie de moléculas procedentes de aldehídos, cetonas y otras sustancias, que pueden llegar a establecer enlaces covalentes con las Apo-B de la lipoproteína LDL. Esto provocará la desnaturalización de la partícula y hará posible la unión con el receptor Scavenger, y por tanto, la captación de dicha partícula por el macrófago. La excesiva producción de LDLox va a originar la aceleración del proceso arteriosclerótico.

Los macrófagos juegan un papel muy importante en los procesos fibroproliferativos, debido a su capacidad de liberar numerosos factores de crecimiento. Entre ellos y de modo particular PDGF, IL-1, TNF α .

1.1.2.3. CELULAS MUSCULARES LISAS (CML)

Han sido descritos dos tipos de fenotipos diferentes de CML, en función de la distribución de los filamentos de miosina, y en función de la formación y secreción de proteínas en el retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi. Cuando las células se encuentran en estado contráctil, responden a los agentes que inducen su vasodilatación o vasoconstricción mediante la liberación de endotelina, catecolaminas, neuropéptidos, leucotrienos, prostaglandinas y óxido nítrico. Cuando se encuentran en estado sintético son capaces de expresar genes para diversas moléculas reguladoras del crecimiento y de citoquinas.

Existen evidencias que sugieren que las CML, en las lesiones, han cambiado su forma fisiológica contráctil por la forma de síntesis. A través de la vía autocrina pueden secretar PDGF así como otras sustancias estimuladoras del crecimiento. Este estado va a determinar el contenido de la matriz de la lesión. Se cree que puede ser el responsable del desarrollo monoclonal de la placa (Contran R.S. et al. 1988).

1.1.2.4. LINFOCITOS T

La observación de la presencia de linfocitos T en los vasos sanguíneos ateromatosos, junto con un gran número de macrófagos, sugiere no sólo que en el proceso ateromatoso exista una reacción inflamatoria, sino que puede haber una reacción de tipo inmunológica (Hansson G.K. et al. 1989). Este hecho es de gran importancia en los procesos de trasplante y rechazo cardíaco.

Se han observado diferencias entre las lesiones de los trasplantes y rechazo cardíaco y las lesiones arterioscleróticas. Ambas tienen los mismos elementos celulares, sin embargo, en las primeras, las placas son más concéntricas que excéntricas en su distribución y también existe un incremento muy importante en el número de linfocitos y de monocitos.

Se han visto una mayor agresión de los antígenos HLA-DR en el endotelio de los vasos de los trasplantes cardíacos. Esto podría ser debido a la inducción de las células T como repuesta de rechazo. Sin embargo, esto no lo observamos en la mayoría de las lesiones arterioscleróticas no asociadas al trasplante (Libby P. et al. 1990).

1.1.2.5. PLAQUETAS

Se ha visto que las plaquetas interactúan con el endotelio vascular lesionado en los lugares donde existen turbulencias. Parece ser que la fijación y activación depende, fundamentalmente, del factor de Von Willebrand.

Las plaquetas liberan PDGF siendo un importante activador de la migración de CML y de los monocitos/macrófagos, así como un potente mitógeno para las CML. Por ello se acepta que los PDGF son los responsables de la proliferación de CML en las lesiones ateroscleróticas iniciales (Fuster V. et al. 1992).

1.1.3. RELACION ENTRE LA OXIDACION LIPOPROTEICA Y LA PATOGENIA DE LA ARTERIOSCLEROSIS

Los monocitos tienen la capacidad de adherirse al endotelio de la pared arterial y penetrar en la íntima. La mayor parte de las células tienen la capacidad de captar las LDL nativas a través del receptor específico de las LDL. Sin embargo, los monocito/macrófagos, poseen un receptor para las LDL modificadas conocido como **receptor Scavenger**. Este tiene la particularidad de no estar sujeto a ningún sistema de control. Esto significará la entrada masiva de ésteres de

colesterol en el interior de la célula, con la consecuente formación de la **célula espumosa** (Hoffand H.F. et al. 1991).

Las células espumosas forman parte de las estrías grasas, que son consideradas como la primera lesión que aparece en el proceso de arteriosclerosis.

En la pared arterial normal solamente encontramos células endoteliales y células musculares lisas, sin embargo en la pared arterial con lesiones ateromatosas encontramos macrófagos y linfocitos T (Jonasson L. et al. 1986).

La lipoproteína LDL puede ser oxidada por células endoteliales, células musculares lisas, monocitos y por macrófagos (Luc G. et al. 1991).

Las LDLox tienen la capacidad de incrementar el reclutamiento de los monocitos hacia la íntima, debido a la actividad quimio-atrayente hacia monocitos circulantes (Quinn M.T. et al. 1987). Este factor quimio-atrayente ha sido identificado como la lisofosfatidilcolina procedente de las LDLox (Quinn M.T. et al. 1988). Posteriormente las LDLox provocan la retención de los macrófagos en la íntima e inhiben su migración de la pared arterial. Ello facilita la captación de las LDL modificadas provocando la perpetuación del proceso y la formación de las células espumosas (Morel D. et al. 1983). Durante la oxidación, se produce la hidrólisis de los ácidos grasos poliinsaturados, originándose fragmentos de elevado peso molecular (cetonas, aldehídos, alcoholes y álcalis). Algunos de estos

fragmentos forman enlaces covalentes con la apoproteína B de la LDL. Esto es crucial para el reconocimiento por parte del receptor de los macrófagos (Sparrow C.P. et al. 1989).

Las LDLox son tóxicas para las células llegando a provocar su muerte. El endotelio arterial disminuirá de grosor y se producirá la denudación del mismo.

Las LDLox pueden tener un efecto procoagulante, incluyendo la inhibición de la antitrombina III. También interactúan con las plaquetas, provocando la aceleración en su agregación. Este hecho es de gran interés en el desarrollo del proceso arteriosclerótico (Lyons T.J. 1991)

Durante el proceso de la oxidación son generados gran variedad de productos reactivos, entre ellos el malondialdehído (MDA). Este tiene la capacidad de formar enlaces covalentes con proteínas, principalmente con residuos de lisina. Estos residuos proceden de la fragmentación de las Apo-B y de los ácidos grasos poliinsaturados, formando complejos de MDA-lisina. Han sido hallados anticuerpos contra las LDL oxidadas, es decir, complejos MDA-lisina en las lesiones ateroscleróticas de conejos con déficit de receptores LDL (WHHL). Se extrajeron LDL procedentes de lesiones aórticas de WHHL, las cuales contenían Apo-B₁₀₀ y fragmentos de Apo-B y se vió que reaccionaban con los anticuerpos MDA-lisina, demostrándose la presencia de LDL oxidadas en la pared arterial. Ha sido demostrada la presencia de autoanticuerpos contra

MDA-LDL tanto en conejos como en humanos. Todo ello sugiere el papel transcendental que juega la oxidación de las LDL en la patogenia de la arteriosclerosis (Palinski W. et al. 1989).

1.2 LIPOPROTEINAS Y METABOLISMO LIPOPROTEICO

Los lípidos son sustancias fundamentales del organismo humano llevando a cabo diversas funciones biológicas muy importantes, como es el de formar parte de la estructura de las membranas celulares y el de ser las principales sustancias de reserva del organismo, siendo los constituyentes fundamentales del tejido adiposo. Se caracterizan por ser insolubles total o parcialmente en agua y solubles en disolventes orgánicos (éter, cloroformo, benceno, etc.). Debido a su insolubilidad necesitan, para su transporte por el torrente circulatorio, unirse a unas proteínas específicas, constituyendo agregados moleculares conocidas con el nombre de **LIPOPROTEINAS PLASMATICAS**.

1.2.1. ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LAS LIPOPROTEINAS

Las lipoproteínas son partículas de forma subsférica en las que podemos diferenciar una porción central o núcleo, en el que se disponen los lípidos más hidrófobos, constituidos por los triglicéridos y los ésteres de colesterol. En la

superficie, se hallan los lípidos más hidrofílicos formados por colesterol libre, fosfolípidos y proteínas anfipáticas llamadas apoproteínas (Fig.2).

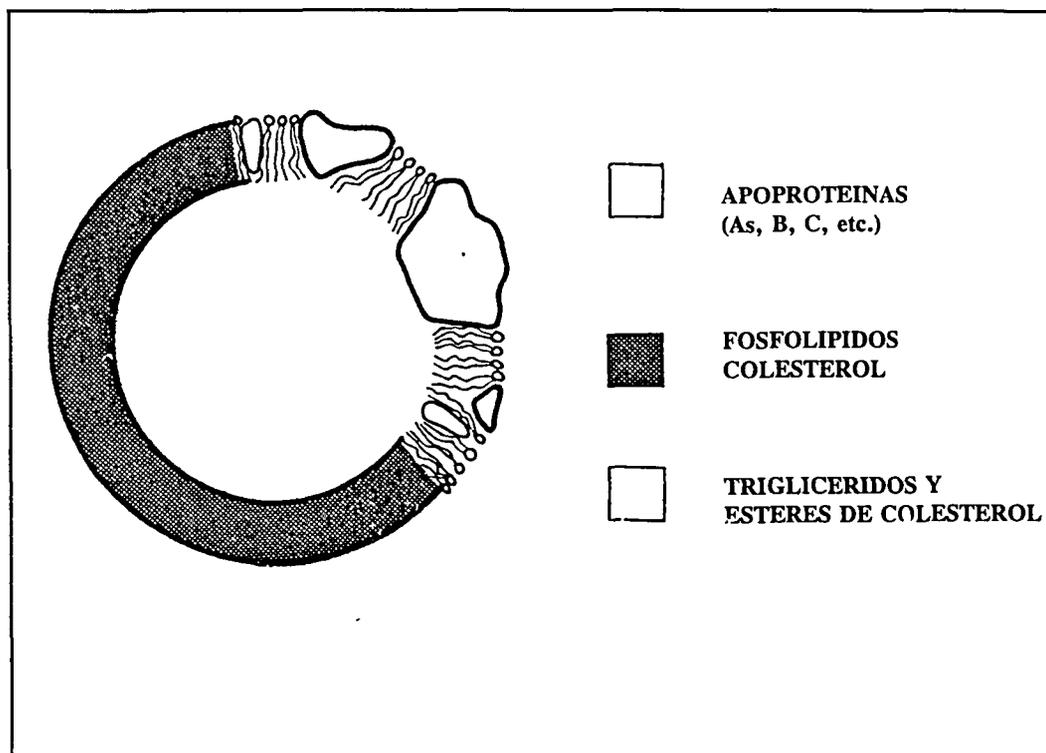


Figura 2. Esquema de la estructura de una lipoproteína. Vilella E. 1990.

Las lipoproteínas transportan en diferentes proporciones, dependiendo de la clase, tres tipos de lípidos diferentes: fosfolípidos, triglicéridos, colesterol libre y esterificado. En la tabla 1 podemos ver la proporción de lípidos en las diferentes lipoproteínas.

Tabla 1

COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS LIPOPROTEINAS

	Quilomicrones	VLDL	IDL	LDL	HDL ₂	HDL ₃
Proteínas	2.0	8.0	17.8	20.5	46.1	61.0
Triglicéridos	90.0	55.0	29.5	5.1	2.5	1.9
Colesterol libre	1.0	7.0	5.8	8.5	3.6	1.9
Colesterol éster	3.0	12.0	22.7	42.36	18.8	14.2
Fosfolípidos	4.0	18.0	24.2	23.6	28.1	20.0

Dolphin P.J. 1985

1.2.2. CLASIFICACION DE LAS LIPOPROTEINAS PLASMATICAS

Las lipoproteínas plasmáticas se clasifican en función de sus características fisicoquímicas y comportamiento en los métodos de separación.

Si sometemos el plasma a electroforesis en fase sólida, podemos clasificar a las lipoproteínas en función de las bandas obtenidas en β -lipoproteína, α -lipoproteínas, pre- β -lipoproteínas y finalmente los quilomicrones. En la actualidad este método está en desuso.

INTRODUCCION

La clasificación actual de las lipoproteínas se basa en la siguiente propiedad: al ser sometidas a un medio acuoso, flotan según sus diferentes densidades. Se distinguen cinco clases de partículas y dentro de cada grupo podemos observar subgrupos en función de su tamaño y composición (Tabla 2). Obtenemos los **quilomicrones**, que son de gran tamaño y de densidad inferior a 0.95 g/ml; **lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)** son de tamaño grande y con una densidad entre 0.95 y 1.006 g/ml; **lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)** son de tamaño inferior que las anteriores y con una densidad entre 1.006 y 1.019 g/ml; **lipoproteínas de baja densidad (LDL)** son más pequeñas que las anteriores y con una densidad entre 1.019 y 1.063 g/ml; **lipoproteínas de alta densidad (HDL)** son las más pequeñas de todas y con una densidad entre 1.063 y 1.121 g/ml. La lipoproteína **Lp(a)** se encuentra en la mayoría de individuos y su tamaño se sitúa entre las LDL y las HDL, con una densidad entre 1.080 y 1.100 g/ml.

En la actualidad se han identificado diferentes subpoblaciones de la mayoría de las lipoproteínas. Fue Gofman en 1954 quien mediante ultracentrifugación de las HDL diferenció tres subclases HDL₁, HDL₂, HDL₃.

Tabla 2

PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LAS LIPOPROTEINAS

	Q	VLDL	IDL	LDL	HDL ₂	HDL ₃
Densidad (g/ml)	< 0,95	0.95-1.006	1.006-1.019	1.019-1.063	1.063-1.125	1.125-1.215
Peso molecular(d)	4 x 10 ⁸	5-10 x 10 ⁶	3-5 x 10 ⁶	2-3 x 10 ⁶	3,6 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵
Diámetro	75-1200	30-80	25-35	18-25	9-12	5-9
Mobilidad	Origen	Pre-β	β lenta	β	α ₁	α ₂
Vida media	1 hora	1-3 horas	1-3 horas	2-3 días	5-6 días	5-6 días

Q=quilomicrones

Edelstain C.

1.2.3. AOPROTEINAS

Alaupovic definió las apoproteínas como aquellas proteínas transportadoras de los lípidos con capacidad de formar partículas polidispersas y solubles. Pero también juegan un importantísimo papel ya, que determinan el destino de los lípidos al ser reconocidas por receptores específicos de membrana y actúan sobre enzimas con capacidad de modular su actividad.

De todas las apoproteínas encontradas, sólo once cumplen con las funciones fundamentales (Tabla 3).

Tabla 3

CARACTERISTICAS Y FUNCION DE LAS APOPROTEINAS DEL PLASMA

Apoproteínas	Concentración (g/l)	Distribución plasmática	Función
AI	1,0-1,2	HLD ₃ , Qn	activar LCAT
AII	0,3-0,5	HDL ₃ , Qn	activar LPL
AIV	0,2	HDL, Qn	activar LCAT
(a)	0,01-1,0	Lp(a)	?
B ₁₀₀	0,7-1,0	VLDL, LDL	síntesis VLDL
B ₄₈	0,03-0,05	Qn, Qr	síntesis Q
CI	0,04-0,06	Q, VLDL, HDL	activar LCAT
CII	0,03-0,05	Q, VLDL, HDL	activar LPL
CIII	0,12-0,14	Q, VLDL, HLDL	inhibir LPL
D(AIII)	0,06-0,07	HDL ₂ , HDL ₃	transporte colesterol
E	0,03-0,05	Q, VLDL, HDL ₂	ligando receptor

Dolphin P.J. 1985

1.2.4. RECEPTORES PARA LAS LIPOPROTEINAS

1.2.4.1 RECEPTOR APO B:E

Este receptor es conocido también como receptor de las LDL. Se encuentra en todas las células formando parte de su estructura a nivel de la membrana. Es una glicoproteína formada por 839 aa, que contienen dos cadenas complejas de polisacáridos unidas a aspargina, y 18 cadenas de oligosacáridos unidos a serina o treonina.

Este receptor puede unirse a dos apoproteínas distintas: la Apo B₁₀₀ de las LDL y la Apo E presentes en los quilomicrones, VLDL, IDL y ciertas subclases de las HDL. Las lipoproteínas que contienen diversas copias de Apo E tienen hasta veinte veces mayor afinidad por el receptor de las LDL que incluso la propia LDL, que sólo contiene una copia de Apo B₁₀₀ (Innerarity T.L. et al. 1987).

La estructura del receptor de los LDL está formada por cinco dominios tal como muestra la figura 3.

El dominio de unión está constituido por 292 aa situados en el extremo N-terminal de la molécula madura, estando estructurado en forma de siete

repeticiones de 40 aa cada una de ellas. Cada repetición contiene seis residuos de cisteína unidos por puentes de disulfuro. El segundo dominio está formado por 400 aa, presenta un elevado grado de homología con el precursor de EGF (Epidermal Growth Factor). El tercer dominio formado por una secuencia de 58 aa rica en serina y treonina; en esta zona se encuentran la mayor parte de oligosacáridos O-unidos. El cuarto dominio formado por 22-25 aa, es imprescindible para la unión del receptor a la membrana. El quinto dominio está formado por 50 aa; su función es la de dirigir al receptor hacia los hoyos recubiertos (Brown M.S. y Goldstein J.L. 1986).

La expresión del gen del receptor de la lipoproteína LDL es regulado por el contenido intracelular de colesterol (Brown M.S. y Goldstein J.L. 1986).

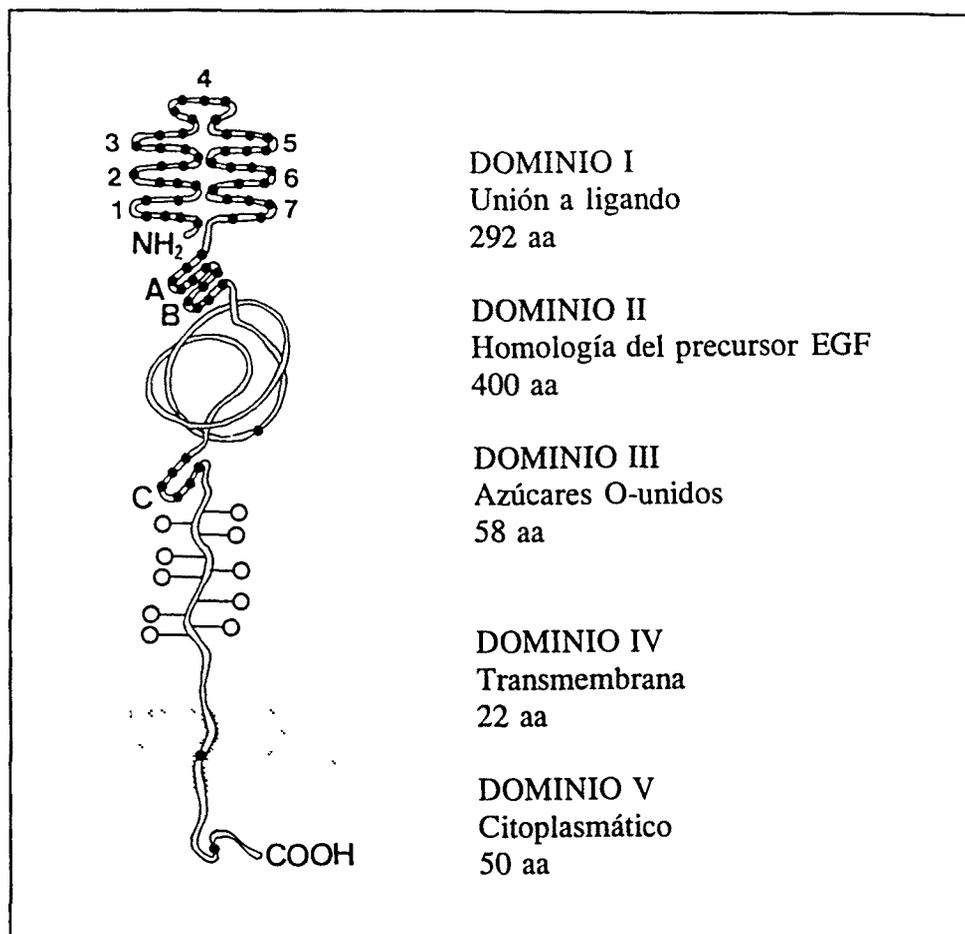


Figura 3. Dominios estructurales y funcionales del receptor Apo B:E.

1.2.4.2. RECEPTOR APO E

Los quilomicrones residuales ricos en Apo E son eliminados por las células hepáticas a través del receptor Apo E (Mahley R.W. et al. 1981).

Hace varios años fue aislada una proteína de membrana parecida al receptor Apo B:E, recibiendo el nombre de LRP (LDL receptor protein)

(Beisiegel F. et al. 1989). Más recientemente se ha aislado de células hepáticas de ratas, una proteína con capacidad de unirse a las lipoproteínas ricas en Apo E (VLDL). El conjunto de receptor-ligando es internalizado y posteriormente procesado por la vía lisosómica (Kowal R.C. et al. 1989).

1.2.4.3 RECEPTOR HDL

Existe una creciente evidencia en favor del concepto del efecto estimulante de las HDL sobre la salida de colesterol extrahepático, es mediado por la unión de alta afinidad en las superficies celulares (Graham D.L. et al. 1987).

Dos grupos distintos han informado sobre la purificación de una proteína de membrana con elevada afinidad por las HDL, por las Apo A-I, Apo A-II y Apo A-IV. Oram J.H. et al. 1990 obtuvieron una proteína purificada de fibroblastos, caracterizada por poseer tres dominios y catorce unidades idénticas repetidas, cada una de ella estimulada por la acumulación de colesterol intracelular. Barnabas R. et al. 1990 hallaron una proteína similar de 36 kd a partir de adipocitos. Esta proteína también estimula la salida de colesterol de la célula reconociendo a la Apo-AI y a la Apo A-IV. Sin embargo, aunque reconoce a la Apo A-II, no estimula la salida de colesterol.

Más recientemente (McKnight G.L. et al. 1992) utilizando anticuerpos, han aislado una proteína celular nueva de 110 Kd llamada HBP (HDL binding protein). Esta proteína presenta 14 repeticiones imperfectas de 70 aa de longitud. Su estructura no corresponde a ningún receptor conocido. Este hecho sugiere que no funciona como un receptor transmembrana conocido.

El funcionamiento de este receptor está todavía en discusión. Por un lado se piensa que las HDL, al unirse al receptor, son internalizadas en las células y durante su recorrido captarían el colesterol junto con otras apoproteínas como la Apo E, siendo secretadas al exterior por un proceso de retroendocitosis (Schmitz G. et al. 1985).

La unión de las HDL con el receptor favorecería la translocación del colesterol intracelular hacía la membrana plasmática y el traspaso de la membrana hacía las HDL. Esto estaría mediado por fenómenos físico-químicos (Oram J.F. et al. 1990).

1.2.4.4 RECEPTOR SCAVENGER

Godstein y Brown en 1979, descubrieron por primera vez el receptor celular Scavenger, durante el intento de averiguar, de que forma las lipoproteínas LDL se acumulaban en los macrófagos de las placa ateromatosas,

en pacientes afectos de hipercolesterolemia familiar carentes de receptores LDL. Este receptor a nivel de los macrófagos era capaz de reconocer a las LDL que habían sido modificadas “in vitro” mediante la acetilación. Este receptor recibió el nombre de receptor de las LDL acetiladas o Scavenger. Posteriormente, este mismo grupo observó “in vitro” que cualquier tipo de modificación de las LDL, que incrementara la carga negativa (acetilación, oxidación, carbamilación, succinilación etc.), mediaba el reconocimiento con gran afinidad por estos receptores a nivel de los macrófagos, no regulándose por el contenido intracelular de colesterol como ocurre en el receptor Apo B:E. El acúmulo intracelular dará lugar a la formación de las células espumosa base de las lesiones ateromatosas (Brown y Goldstein 1983).

Se ha observado que los macrófagos pueden expresar varios tipos de receptores Scavenger. Un tipo de receptores prefieren las LDL acetiladas, otro las LDL oxidadas y el último que se une a ambos.

Recientemente ha sido determinada la estructura de dos tipos de receptores Scavenger en los macrófagos aislados del pulmón bovino por clonización del DNA complementaria (Fig.4). El receptor tipo I es una proteína trimérica con un peso molecular de 220 kdaltons y con 453 aa, mientras que el receptor tipo II posee 349 aa. Ambos receptores tienen cinco dominios iguales: un dominio citoplasmático (I) que consiste en la región

N-terminal de la molécula con 50 aa, un dominio transmembrana (II) formado por 26 aa hidrofóbicos, un dominio espaciador (III) de 32 aa y dos lugares de unión para los hidratos de carbono. Un dominio en alfa-hélix (IV) de 163 aa con cinco lugares de N-unión para hidratos de carbono, un dominio de alta homología con el colágeno (V) de 72 aa. El receptor tipo I posee un VI dominio formado por 110 aa rico en Cisteina situado en el extremo C-terminal, ausente en el receptor tipo II la cual es reemplazada por seis residuos terminales, no siendo necesario para la unión con la LDL acetilada. Posteriormente, cualquiera de los dos receptores o ambos a la vez, mediante el dominio fibroso extracelular (IV o V) serán los responsables de la unión específica al receptor. Se cree que el dominio V es el lugar ideal para realizar esta función, ya que tiene una gran afinidad por el colágeno y po contener varias proteínas de unión para una gran variedad de moléculas (Kodama T. et al. 1990), (Rohrer L. et al. 1990).

Los receptores Scavenger solamente han sido encontrados en determinadas células como los macrófagos y las células de la musculatura lisa (Hoffand H.F. et al. 1991).

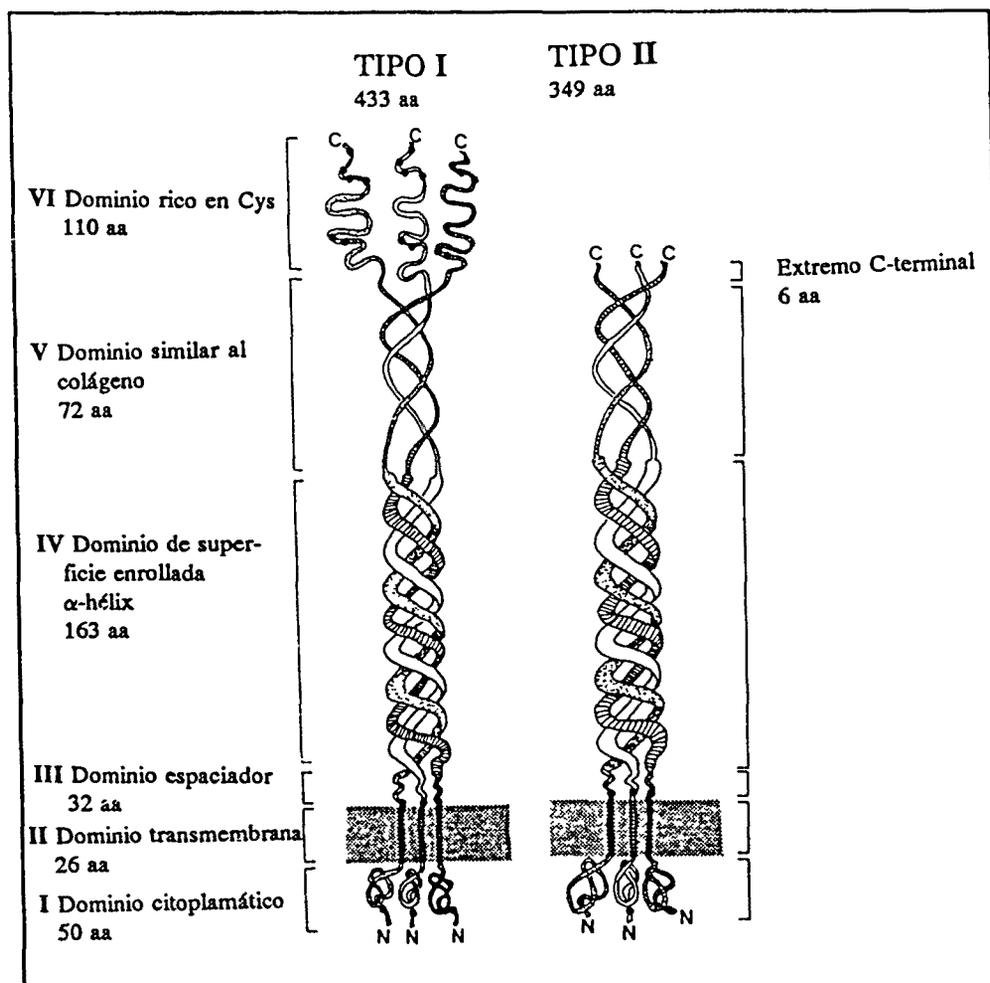


Figura 4. Estructura de los receptores Scavenger tipo I y tipo II.

1.2.5. METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS

Como se ha comentado en el apartado anterior, las lipoproteínas son las encargadas del transporte de los lípidos por el torrente circulatorio. Pero este transporte sigue diversas direcciones. Las lipoproteínas encargadas de llevarlo a cabo son también diferentes. El metabolismo lipídico lo vamos a dividir en función de la procedencia u origen de los lípidos: La vía exógena es la encargada de distribuir las grasas procedentes de la absorción de la dieta por el organismo. La vía endógena, en cambio, es la encargada de distribuir los lípidos que han sido sintetizados por el propio hígado. Dentro de este apartado, a su vez, podemos discernir entre el transporte desde el hígado hasta los tejidos, conocido con el nombre de transporte centrífugo y el transporte centrípeto, responsable del transporte del colesterol procedente de los tejidos periféricos al hígado, donde se llevará a cabo su catabolismo.

1.2.5.1. VIA EXOGENA

La grasa procedente de la dieta llega al intestino delgado en su porción duodenal donde se produce la mezcla con la secreción biliar. Aquí tiene lugar la emulsión y formación de micelas. Sobre esta formación actuará la lipasa pancreática hidrolizando parcialmente los triglicéridos, formándose 2-

monogliceroles y ácidos grasos libres. Los ácidos grasos que han sido absorbidos junto con los ácidos biliares, llegan al hígado a través de la circulación portal, utilizando la albúmina como medio de transporte. A nivel del enterocito se resintetizan triacilgliceroles y se reesterifica el colesterol. Los triacilgliceroles y los ésteres de colesterol recién formados se unen a las apoproteínas AI, AII y B₄₈ que junto a los fosfolípidos y el colesterol libres dará lugar a formación del quilomicron naciente.

Los quilomicrones nacentes pueden ser de diferentes tamaños y composición dependiendo del momento absoritivo. Tras la ingesta, los quilomicrones nacentes son de gran tamaño y ricos en triglicéridos, mientras que en períodos postabsortivos son pequeños y pobres en triglicéridos (Fig. 5).

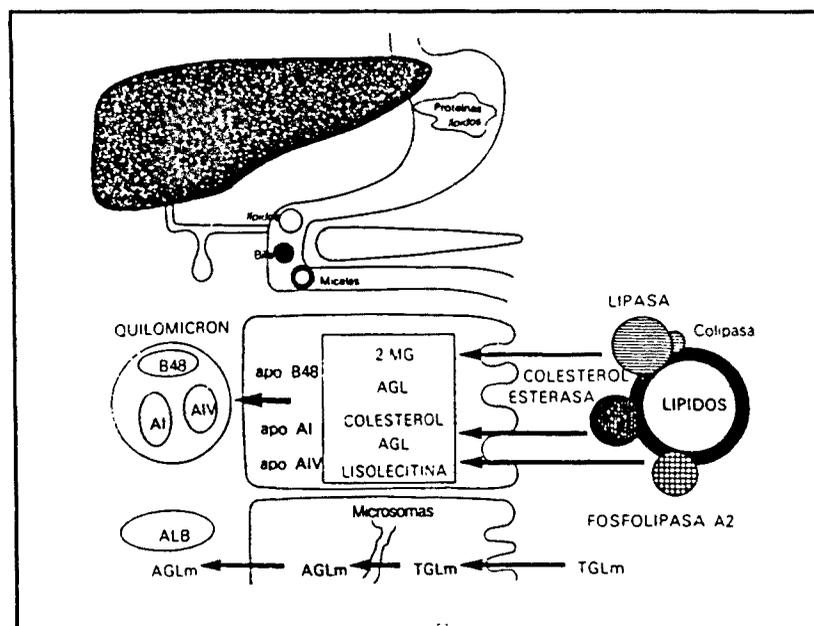


Figura 5. Absorción de las grasas de la dieta.

A través de la linfa, los quilomicrones llegan al plasma, gracias al intercambio con las HDL, estos adquieren apoproteínas C y E. Una vez el quilomicrón ha adquirido Apo-C_{II} es capaz de activar a la lipoproteína lipasa (LPL), la cual actuará hidrolizando a los triglicéridos del propio quilomicrón. Se origina el quilomicrón residual, siendo rico en ésteres de colesterol y Apo-E. Son eliminados de la circulación por los receptores hepáticos específicos para la Apo-E.

1.2.5.2. VIA ENDOGENA. TRANSPORTE CENTRIFUGO

El hígado es capaz de sintetizar de forma continuada triglicéridos y colesterol a partir del Acetil-CoA. Junto con el colesterol y los ácidos grasos, que llegan al hígado procedente de la dieta tiene lugar la formación de VLDL. La VLDL es una lipoproteína rica en triglicéridos, Apo-B₁₀₀, Apo-E y Apo-C. En el plasma, de forma análoga a los quilomicrones, las VLDL sufren un proceso de maduración mediante la adquisición de Apo-C procedente de las HDL, convirtiéndose de esta forma en un buen sustrato para la acción de la LPL. Las VLDL, sufren un proceso de degradación mediante el cual, se transfiere colesterol no esterificado, Apo C_{II} y C_{III} a las HDL y ésteres de colesterol desde las HDL a las VLDL. La partícula resultante recibe el nombre de VLDL residual o IDL.

Las IDL están formadas, principalmente, por ésteres de colesterol, Apo-B₁₀₀ y Apo-E pudiendo ser reconocidas por los receptores Apo B,E y Apo E hepáticos y ser eliminadas del plasma. Las IDL van perdiendo progresivamente los triglicéridos por la acción de la lipasa hepática transformándose en LDL.

La LDL es una lipoproteína que contiene casi exclusivamente Apo-B₁₀₀ y ésteres de colesterol. Esta partícula es reconocida por los receptores específicos Apo B:E, que se encuentran distribuidos en la mayoría de las células del organismo. La captación celular del colesterol, receptor dependiente, está regulada por el contenido en colesterol no esterificado intracelular. La LDL es la encargada de transportar el colesterol, desde el lugar donde ha sido sintetizado, hasta los tejidos periféricos (Brown M. et al. 1975) (Fig.6).

1.2.5.3. VIA ENDOGENA. TRANSPORTE CENTRIPETO

Las HDL son sintetizadas fundamentalmente en el hígado y en el intestino. Las HDL nacientes tienen forma discoidal estando compuestas por colesterol libre, fosfolípidos y apoproteínas. La lecitina colesterol acil transferasa (LCAT) se encarga de esterificar el colesterol libre de la superficie de las HDL. El colesterol esterificado, al ser polar, migra al interior de la

partícula por lo que HDL_n se transforma en HDL₃. Al mismo tiempo, se produce el intercambio de apoproteínas procedentes de las partículas ricas en triglicéridos (quilomicrones y VLDL) aportando Apo-E y cediendo las HDL Apo-A₁. Las HDL₃, mediante la acción de la proteína de transferencia de colesterol éster (CETP), producirán el intercambio de ésteres de colesterol por triglicéridos con los quilomicrones y las VLDL, convirtiéndose en residuales. Posteriormente, las HDL₃ se transforman en HDL₂, siendo éstas últimas más grandes y ricas en triglicéridos y Apo-E. Las HDL son reconocidas por los receptores Apo-E hepáticos, donde se produce su catabolismo (Fig.7)

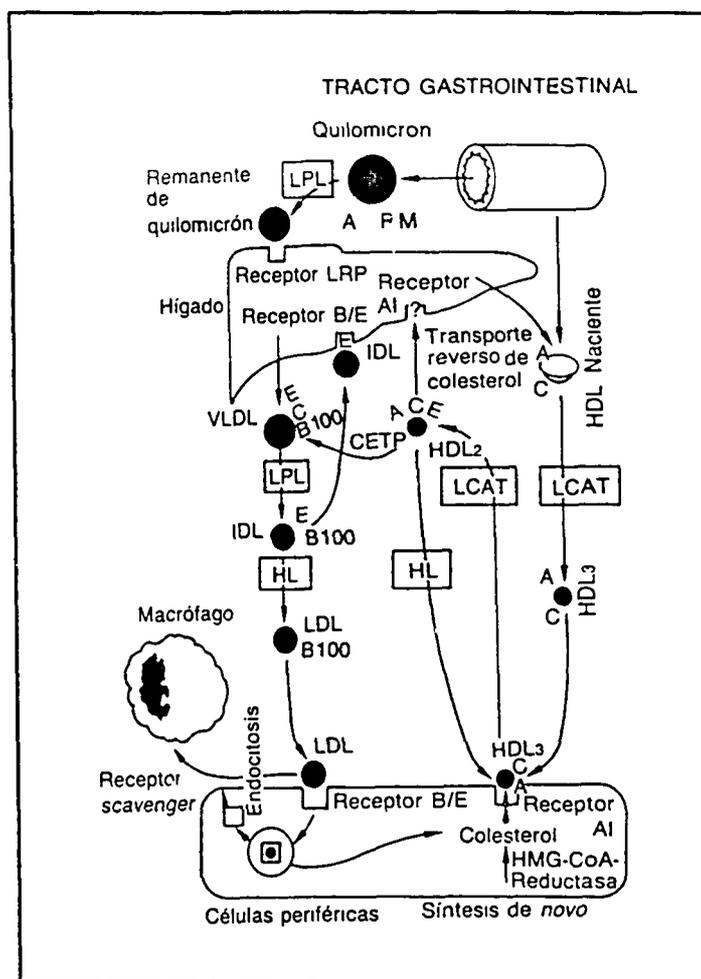


Figura 6. Diagrama del metabolismo endógeno del colesterol.

1.2.6. METABOLISMO INTRACELULAR DEL COLESTEROL

El colesterol es vital para la célula, ya que es un componente esencial de su membrana, pero también es utilizado por algunas células especiales en la síntesis de las hormonas esteroideas y de los ácidos biliares.

El contenido intracelular de colesterol procede de dos vías distintas: 1) La síntesis endógena de colesterol, en la cual a partir del Acetil-Co A y mediante la participación de más de veinticinco reacciones enzimáticas distintas se sintetizará el colesterol intracelular. La enzima más importante en la regulación de la síntesis del colesterol es la 3-Hidroxi-3-Metil-Glutaril-Coenzima A Reductasa (HMG-Co A). 2) La captación extracelular de colesterol del complejo formado por la LDL-receptor Apo B:E. A continuación, tiene lugar la internalización en forma de vesícula. Posteriormente, el complejo es hidrolizado en los lisosomas liberándose el colesterol en su interior de la célula. El colesterol liberado es utilizado inmediatamente, o bien, es esterificado por el enzima Acil-CoA Colesterol Aciltransferasa (ACAT) y almacenado (Balanyá J. et al. 1992).

El aumento del contenido del pool intracelular de colesterol está regulado a tres niveles: 1) Supresión de la síntesis intracelular de colesterol, mediante la disminución de la actividad de la HMG-Co A reductasa. Debemos tener en cuenta que la actividad de este enzima no se inhibe completamente, ya que se requieren pequeñas cantidades de mevalonato para la síntesis de compuestos isoprenoides, como el grupo hemo A y ubiquinona, que participan en el transporte de electrones, el dolicol necesario para la síntesis de glucoproteínas. 2) Activación de la enzima ACAT. Esta esterifica el exceso de colesterol libre intracelular y lo almacena en forma de éster de colesterol.

3) Supresión de las síntesis de nuevas moléculas del receptor Apo B:E de las LDL. Con ello se logra bloquear la entrada de colesterol extracelular.

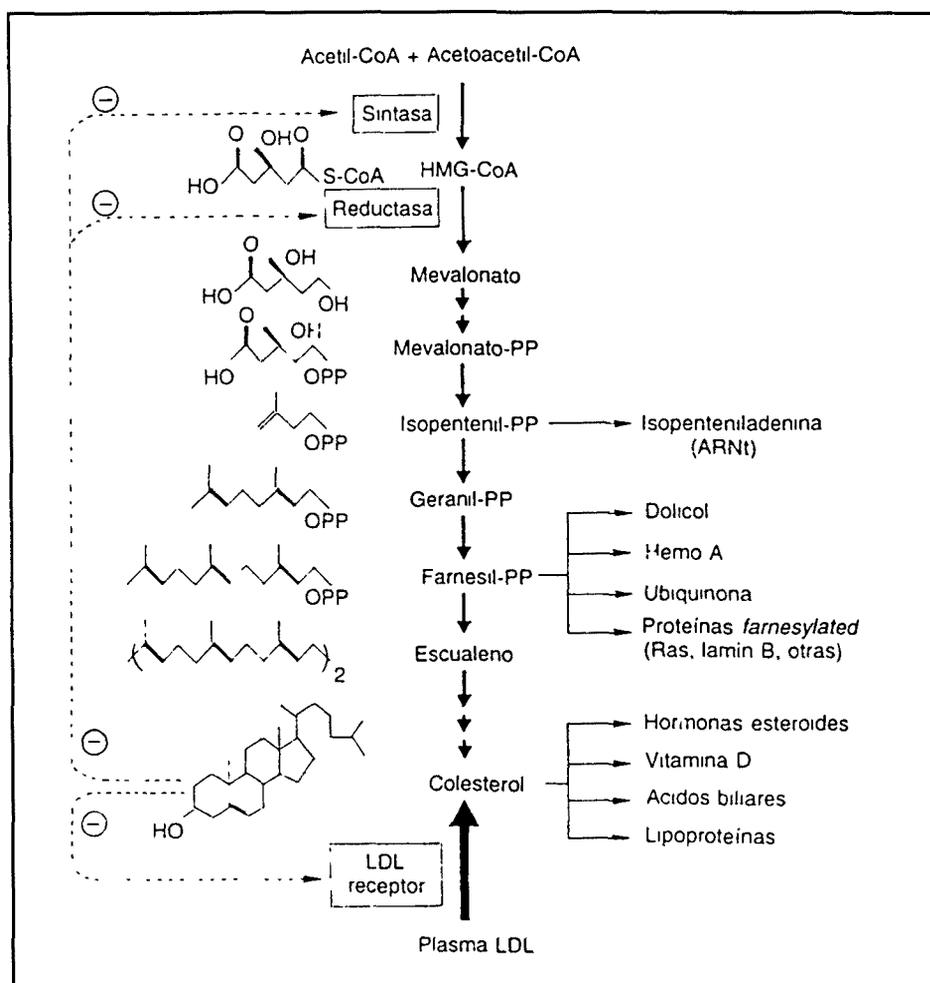


Figura 7. Síntesis intracelular del colesterol. Royo T. 1993

Cuando el contenido del pool intracelular disminuye, todos estos mecanismos de regulación se invierten, con la finalidad de mantener un pool intracelular constante (Fig.8).

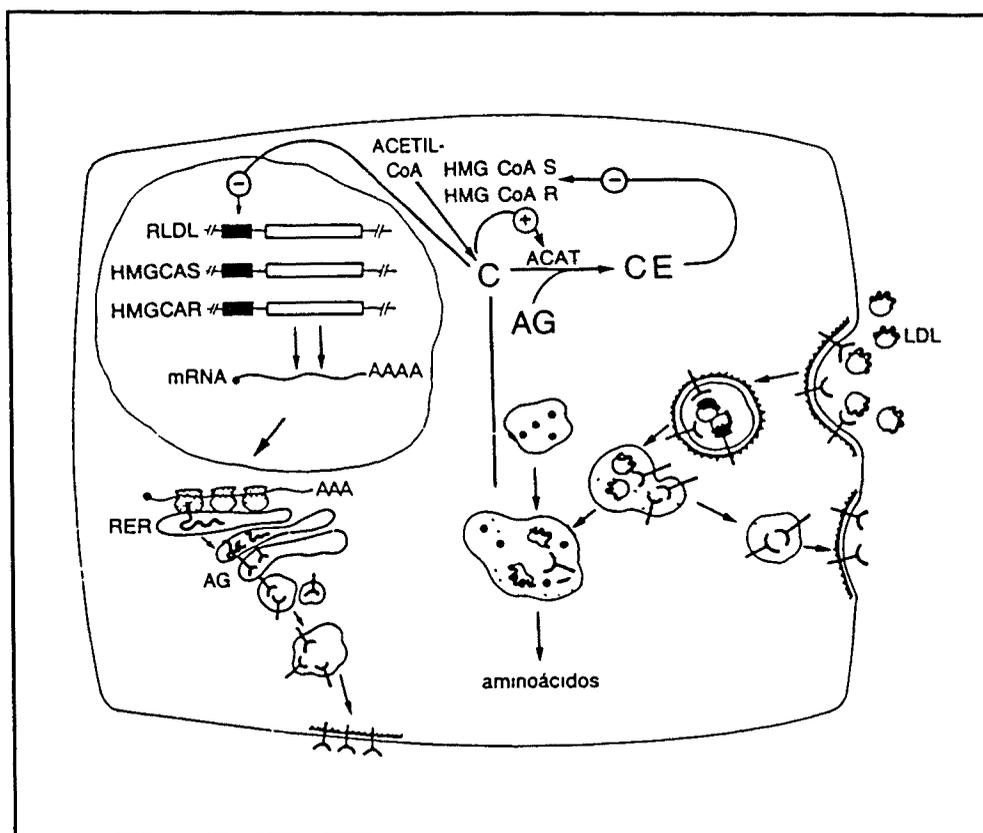


Figura 8. Regulación intracelular del colesterol.

Brown M.S. y Goldstein J.L.

1.3. OXIDACION LIPOPROTEICA

1.3.1. RADICALES LIBRES

Entendemos por radical libre cualquier molécula o átomo que contiene en su última capa uno o más electrones desapareados (Halliwell B. et al. 1991).

Los radicales libres se pueden formar cuando se produce la rotura del enlace covalente, si el electrón de cada uno de los pares formados permanece con su átomo. A este proceso se le conoce como fisión homolítica. La energía necesaria para la disociación del enlace covalente puede producirse por calor, radiaciones electromagnéticas, etc. La fisión homolítica del enlace covalente de una molécula de agua dará lugar a un radical de hidrógeno ($H\cdot$) y a un radical hidroxilo ($OH\cdot$). Por el contrario, llamamos fisión heterolítica si al producirse la rotura del enlace covalente, un átomo recibe los dos electrones. El átomo que recibe el electrón extra se cargará negativamente, mientras que la carga del átomo que cede el electrón, será positiva. La fisión heterolítica del agua originará un ion de hidrógeno H^+ y un ion hidroxilo OH^- .

1.3.2. RADICALES LIBRES DEL OXIGENO

La teoría de los orbitales moleculares explica los radicales libres del

oxígeno: la molécula de oxígeno en su estado fundamental contiene dos electrones desapareados cada uno de ellos localizados en diferente orbital antienlazante π^* (Fig.9). Ya que en su estado fundamental estos dos electrones tienen el mismo número de spin, la molécula es solamente moderadamente activa, de tal modo, que su velocidad de reacción, en la mayoría de los compuestos biológicos, es a temperaturas fisiológicas, inapreciablemente baja (Romero-Alvira D. et al 1991).

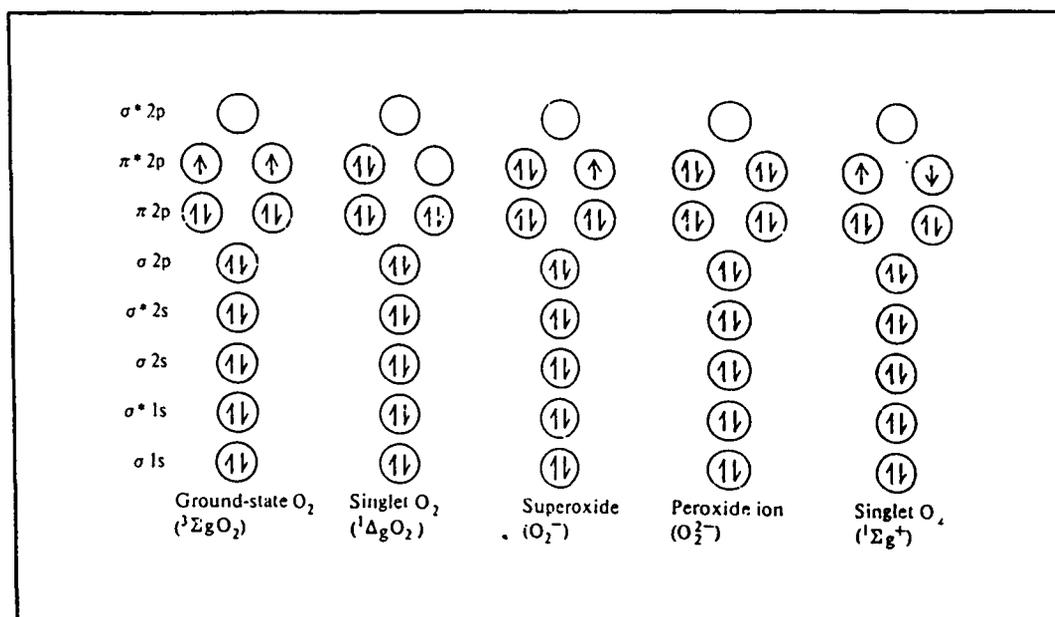


Figura 9.

El oxígeno tiene la capacidad de oxidar electrones procedentes de otras partículas, reduciéndose él mismo. El oxígeno, para poder oxidar a un átomo o molécula, acepta un par de electrones y éstos van a colocarse en los orbitales moleculares π^* . Si al oxígeno, en su forma estable, se le aplica una cantidad

INTRODUCCION

determinada de energía se transformará en un singlete. Existen dos formas de singletes de oxígeno $^1\Delta_g\text{O}_2$ y $^1\Sigma_g^+$. Ellos no son radicales, pero sin embargo, si el spin de restricción es eliminado la capacidad oxidante está aumentada (Halliwell B. et al. 1985).

Si sólo se le añade un electrón a la molécula estable de oxígeno, éste ocupará uno de los orbitales antienlazantes π^* . El producto resultante es el radical superóxido O_2^- . A pesar de su nombre, el radical superóxido, con un número impar de electrones, es actualmente menos radical que el oxígeno por sí mismo.

Si se le añade más de un electrón, se formará el ion peróxido O_2^{2-} , que tampoco es un radical. Normalmente en el sistema biológico el producto de la reducción de dos electrones del oxígeno es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El producto de la reducción de cuatro electrones es agua. A continuación podemos ver este proceso desglosado según las diferentes etapas (Fig.10).

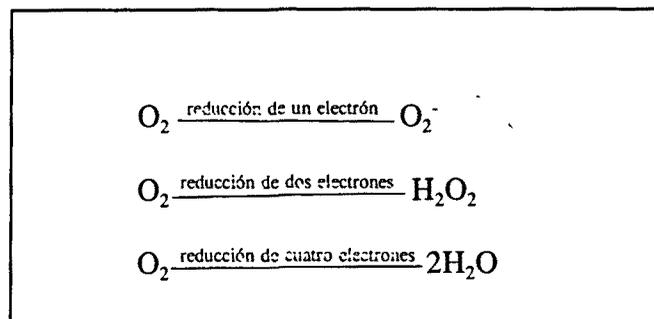


Figura 10. Etapas en la reducción del oxígeno

1.3.3. RADICALES LIBRES EN LOS ORGANISMOS VIVOS

Los radicales libres son generados “in vivo” como subproductos del metabolismo normal. La acción catabólica de muchos enzimas celulares da origen a radicales libres como producto intermedio. Diversos agentes antineoplásicos producen radicales de oxígeno originando O_2^- , H_2O_2 y radicales hidroxilo (OH \cdot). La exposición a radiaciones electromagnéticas (rayos X) originará, en primer lugar, radicales tipo OH \cdot y H \cdot . Existen muchos otros agentes como las partículas polucionantes del aire, los pesticidas, el tabaco, los anestésicos, los hidrocarburos aromáticos etc., productores de radicales libres. Los radicales libres, en los organismos vivos, provocan la desorganización y destrucción de las membranas y, consecuentemente, pueden ocasionar daño a nivel de celular (Bruce A. et al 1982).

1.3.4. ORIGEN INTRACELULAR DE LOS RADICALES LIBRES

Existen pequeñas moléculas con capacidad para inducir procesos de oxidación-reducción produciendo radicales libres intracelulares. Como ejemplo de ello podemos mencionar a las catecolaminas, hidroxiquinonas, tioles, flavinas, tetrahidroterinas. Todas ellas originan O_2^- (Bruce A. et al.1982).

Enzimas y proteínas solubles durante su catabolismo también originan

radicales libres; entre ellos, la xantina oxidasa, la aldehído oxidasa, la flavoproteína deshidrogenasa etc., también producen O_2^- (Rajagopalam K.V.1980). Asimismo, se ha visto un aumento de su producción en ciertos estados metabólicos como la hipoxia, la isquemia y en la terapia con ciertos antibióticos.

Tanto el retículo endoplasmático, como la membrana nuclear, contienen citocromos P_{450} y b_5 con capacidad de oxidar los ácidos grasos insaturados. La oxidación tiene lugar al convertir los componentes no polares, en derivados hidroxílicos, por la reacción de transferencia de un electrón. Es necesario la presencia de dos cofactores NADH o NADPH (Capdevila J. et al. 1981).

Las peroxisomas, al contener concentraciones altas de oxidasas generan H_2O_2 de origen celular. No se ha demostrado que el precursor inmediato de H_2O_2 sea el O_2^- . El enzima peroxisomal catalasa metaboliza la mayor parte de H_2O_2 generado por las oxidasas peroxisomales (Masters C. et al. 1977).

La membrana plasmática es un punto clave ya que los radicales libres reaccionan en su superficie. Los radicales libres generados extracelularmente pueden cruzar la membrana plasmática y reaccionar en ella antes que con otros componentes celulares. Así, los ácidos grasos insaturados (fosfolípidos, glicolípidos, glicéridos y esteroides) presentes en la membrana y las proteínas

INTRODUCCION

transmembrana, pueden ser dañados por la acción de los radicales libres. El aumento de la permeabilidad, debido a la peroxidación lipídica y a la oxidación de las proteínas de la estructura de la membrana, pueden causar la interrupción de gradiente de iones transmembrana, la disminución de las funciones secretorias, y la inhibición e integridad de los procesos metabólicos celulares. Los radicales libres producidos por la membrana plasmática asociados a enzimas, como la lipooxigenasa y la ciclooxigenasa, intervienen en el metabolismo del ácido araquidónico originando una serie de productos con potente acción biológica, como las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos (Fig.11).

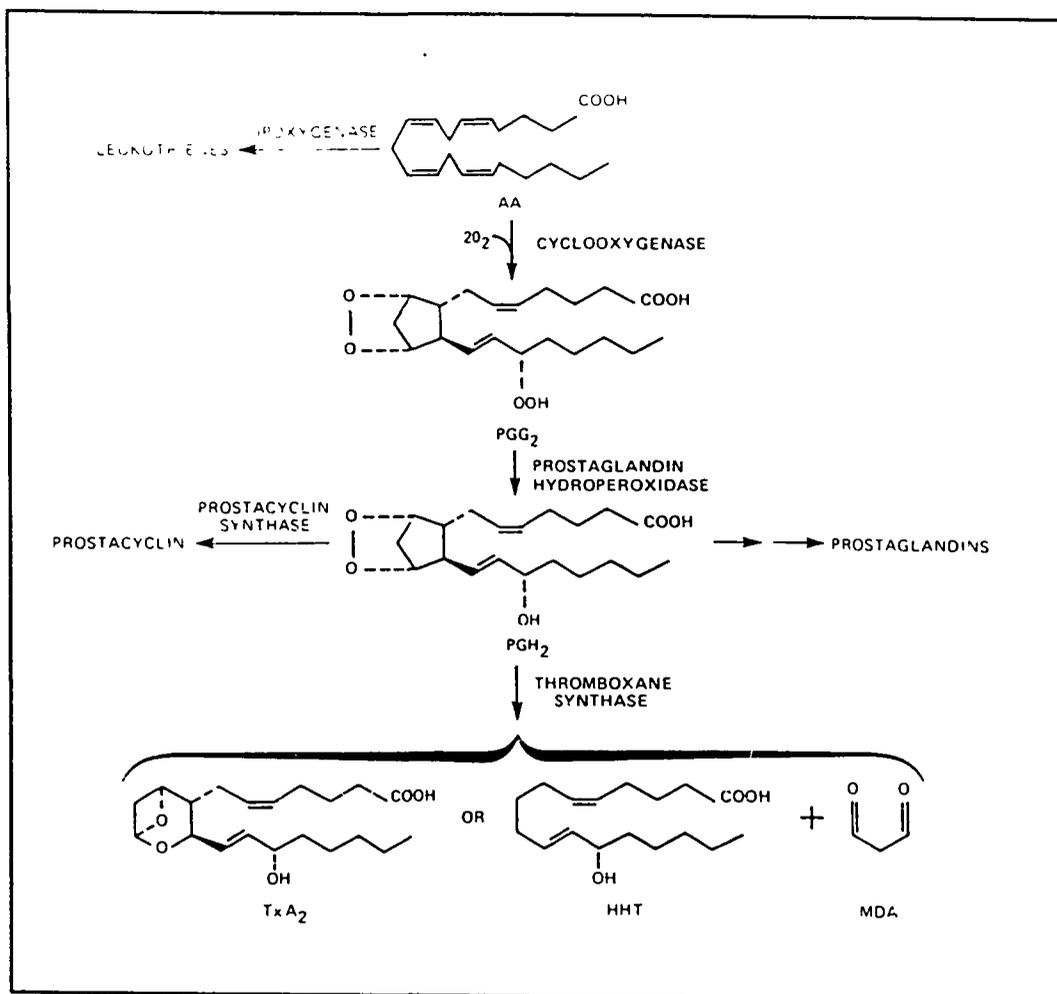


Figura 11. Metabolismo del ácido araquidónico.

1.3.5. PEROXIDACION LIPIDICA

La incorporación de una molécula de oxígeno, a nivel de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), va a originar el inicio de un proceso en cadena, conocido como **peroxidación lipídica** (Ingold K. 1961). En este proceso podemos distinguir diferentes fases o reacciones: 1) La llamada de **iniciación**, en la cual, por la

acción de un radical libre, se origina la extracción del átomo de hidrógeno del grupo metileno ($-\text{CH}_2-$). El átomo de hidrógeno tiene sólo un electrón, mientras que el átomo de carbono, tiene un electrón impar $-\text{C}\dot{\text{H}}-$. El radical carbono tiene tendencia a estabilizarse mediante el reordenamiento o reorganización molecular; posteriormente, reaccionará con una molécula de oxígeno y formará el radical peróxido $\text{R-OO}\cdot$. 2) La llamada de **prolongación**, en la cual, los radicales peróxidos pueden extraer átomos de hidrógeno de otras moléculas de lípidos. Una vez se ha iniciado este proceso se tiende a su continuidad. La combinación del radical peróxido con el átomo de hidrógeno que ha extraído va a formar los hidroperóxidos lipídicos R-OOH .

Un destino alternativo de los radicales peróxidos son la formación de peróxidos cíclicos (peróxido cíclico y el endoperóxido cíclico). 3) La **descomposición**, mediante la cual, los hidroperóxidos son catalizados por metales complejos originando aldehídos (**Malondialdehído**) (Fig.12). Los hidroperóxidos lipídicos son moléculas estables a temperaturas fisiológicas, pero la presencia de metales complejos cataliza su descomposición.

“In vivo” tiene gran importancia la presencia de las sales de hierro, tanto en la forma férrica como en la ferrosa, ya que se ha comprobado que catalizan la descomposición de los hidroperóxidos, proporcionalmente a su concentración. “In vitro” se ha visto que el tratamiento de soluciones con sustancias capaces de

unirse al hierro y al cobre, origina la disminución de la peroxidación a nivel de la membrana lipídica (Halliwell B. 1992).

Han sido definidos dos formas de peroxidación lipídica, dependiendo de si la oxigenación de PUFA es controlada o no, enzimáticamente.

La incorporación de una molécula de oxígeno a nivel PUFA no esteroideos (ácido araquidónico), está catalizada por dos enzimas oxigenasas que contienen el grupo hemo: la ciclooxigenasa cataliza PUFA bis-dioxigenación produciendo endoperóxidos precursores de las prostaglandinas y los tromboxanos; la lipooxigenasa cataliza la monodioxigenación de los PUFA originando hidroperóxidos precursores de los leucotrienos, glutatión conjugado y lipoxinas. Los productos de la oxigenación de PUFA por vía enzimática reciben el nombre de eicosanoides, los cuales, tienen una acción hormonal local muy potente (Smith W. 1989).

La peroxidación por la vía no enzimática de los PUFA, está estimulada por la reducción del oxígeno, por la transmisión de metales (autooxidación), y por los propios hidroperóxidos (peroxidación dependiente de los hidroperóxidos) (Girotti A.w. 1985). La peroxidación por esta vía de los PUFA esteroideos de las lipoproteínas y la de membrana de los fosfolípidos dará lugar a importantes efectos tóxicos (Steinberg D. et al. 1989).

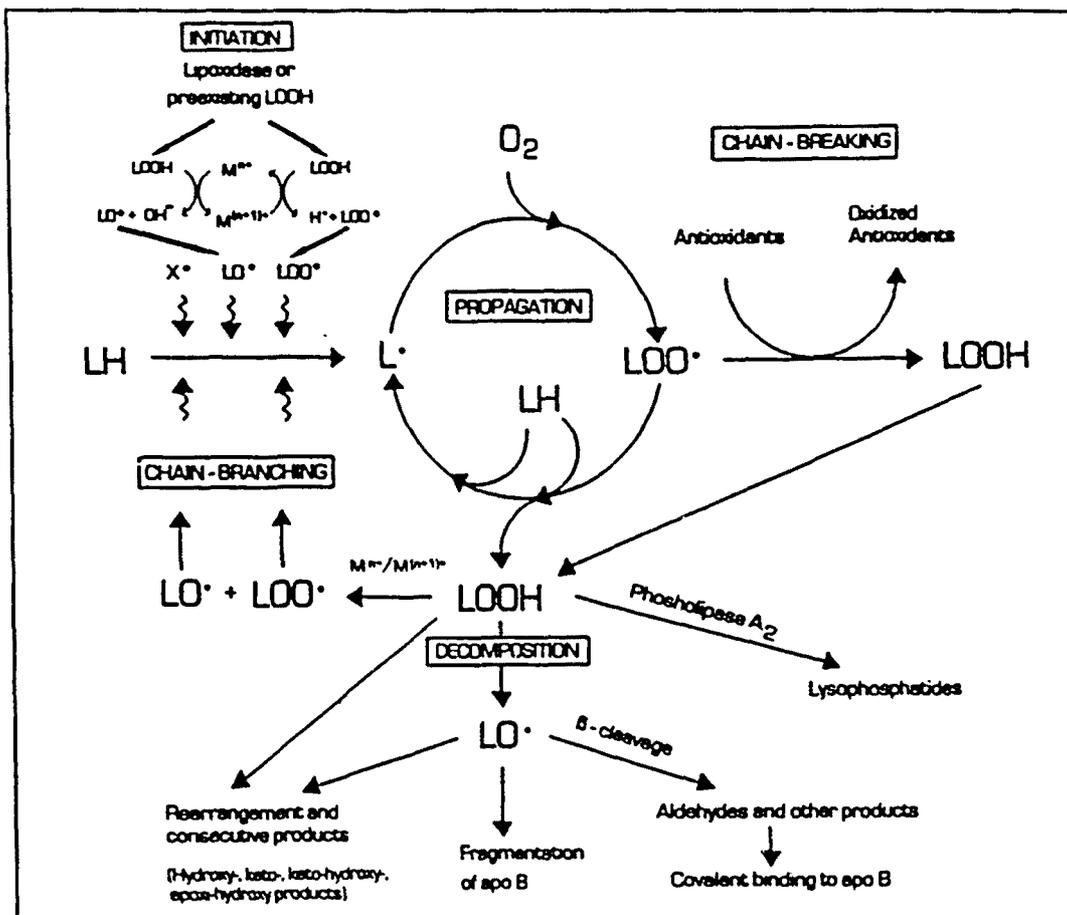


Figura 12. Esquema de la oxidación de la LDL. LH es el lípido que contiene PUFA. L \cdot es el carbono central del radical lípido. LOO \cdot y LO \cdot son radicales peróxidos. LOOH son hidroperóxidos. Esterbauer 1992.

1.3.6. MALONDIALDEHIDO

El Malondialdehído (MDA) es una molécula volátil, de bajo peso molecular ($C_3H_4O_2$), de cadena corta, 1,3 dicarbonílica (Fig.13). Se forma como

uno de los productos finales por la vía de descomposición, tanto primaria como secundaria, en la peroxidación lipídica (Janero D. 1990).

La determinación del MDA se considera como un índice inespecífico de peroxidación lipídica. Esto es debido a que no todos los lípidos que han sufrido un proceso de peroxidación generan MDA (Frankel E. et al. 1983). El MDA no es el único (aldehído) producto final que se produce en la descomposición de los peróxidos (Kosugi H. et al. 1989), como tampoco es una sustancia generada exclusivamente en la peroxidación lipídica.

Podemos hablar de dos tipos de métodos de medición: el directo, por el cual se cuantifica el propio MDA, la cromatografía líquida (HPLC) acoplado al UV espectrofotómetro. Es el más específico y sensible para cuantificar el MDA. Sin embargo, esta técnica tiene limitaciones importantes por su dificultad y por la necesidad de equipos muy sensibles (Esterbauer H. et al. 1984), (Largilliere C. 1988). Entre los métodos indirectos, el más utilizado y específico es la reacción con el **ACIDO TIOBARBITURICO**.

A mediados de 1800 se inició el estudio del ácido barbitúrico por su capacidad colorante y fotosensibilizante (Sans R.G. et al. 1988). Se vio que diferentes propiedades químicas del ácido barbitúrico eran compartidas por el 2-tio barbitúrico (TBA), lográndose cristalizar por primera vez, en 1887.

INTRODUCCION

Posteriormente, se consideró que el test del TBA en condiciones ácidas, podía utilizarse para seguir el progreso y extensión de la oxidación de los lípidos en sistemas biológicos etc. Al incubar tejido en condiciones aerobias, mediante el test con el TBA, se obtenía un producto rojo proporcional al contenido de peróxidos y consumo de oxígeno durante la autooxidación de PUFA (Kenaston C.B. et al. 1955).

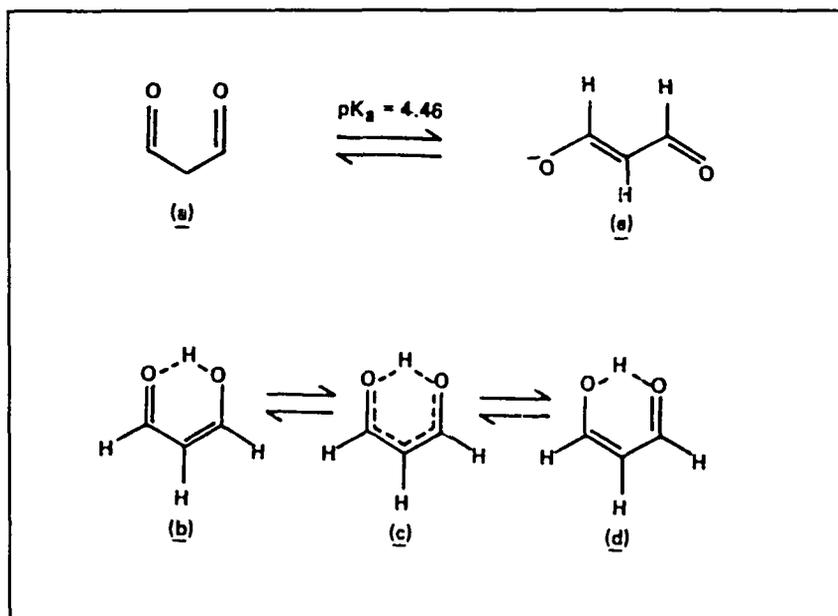


Figura 13. Estructura química del MDA. Janero D. 1990.

Se ha visto que el MDA colocado en una habitación a temperatura elevada es capaz de reaccionar con el ácido TBA dando lugar a un producto de color rojo (Tarlardgis B.G. et al. 1962), pero la máxima coloración se obtiene con el test del

TBA, procedente de las grasas peroxidadas en medio ácido y a una temperatura alta (80-120 °C), durante un período de tiempo entre los diez minutos y la hora (Ramírez M.A. et al. 1987). Cada molécula de MDA reaccionará con dos moléculas de TBA.

Existen muchos factores que intervienen en la respuesta del test del TBA con el MDA derivado de la peroxidación de las grasas (los antioxidantes, la temperatura, el pH, la transición de metales, los estímulos para la iniciación de la peroxidación etc). El TBA es capaz de reaccionar con otras muchas sustancias distintas del MDA, obteniéndose una coloración que va desde rosa a rojo (Knight J. et al. 1988). El TBA no es un test específico para el MDA (Kosugi H. et al. 1989), aunque se considera que este test tiene una buena correlación con el MDA contenido en los lípidos peroxidados (Janero D. et al. 1988); por todo ello, en la actualidad, es el método más utilizado en el estudio de la peroxidación de los lípidos.

1.3.7. OXIDACION DE LAS LIPOPROTEINA DE BAJA DENSIDAD (LDL)

Como ya se ha comentado anteriormente, una de las hipótesis de la formación de la placa de ateroma es debida a la modificación que sufren las LDL al ser oxidadas por los radicales libres, o bien, por el enzima lipooxigenasa.

La lipoproteína LDL está formada por diferentes tipos de ácidos grasos, de los cuales, la mitad son ácidos grasos poliinsaturados mayoritariamente ácido linoleico y, en menor proporción, ácido araquidónico, ácido docohexaenoico y ácido oleico (Esterbauer H. et al. 1990). El contenido y la distribución de los ácidos grasos en las LDL puede variar de forma considerable en cada sujeto en función de sus hábitos dietéticos. Así (Parthasarathy S. et al. 1990) demostró que la administración de una dieta rica en ácido oleico en conejos daba lugar a una LDL ricas en oleatos y, en consecuencia, resistente a ser oxidada.

Glavind en 1952, señaló que lesiones arterioscleróticas, procedentes de aorta humana, contenían peróxidos y que éstos, se correlacionaban positivamente con la extensión de la ateromatosis. Se ha demostrado que las LDL depositadas en la aorta, en su capa íntima-media, son también retenidas extracelularmente por la asociación con la carga negativa de los glicosaminoglicanos. “In vitro” se ha visto que diferentes subpoblaciones de LDL están unidas al condroitín sulfato y a los proteoglicanos de arterias humanas (Camejo G. et al. 1991). Es muy importante recordar que los macrófagos captan más rápidamente LDL, procedentes de la aorta, que LDL del plasma. Todo esto apoya la hipótesis que las LDL depositadas en las arterias son oxidadas.

Como es sabido, las células espumosas son derivados de los monocitos-macrófagos. Este hecho se evidenció en diferentes estudios con animales de

experimentación al observar que los monocitos invadían, en primer lugar, el espacio subendotelial y posteriormente se transformaban en macrófagos. Estos captaban las lipoproteínas, infiltrándose y depositándose en los espacios subendoteliales (Ross R. 1993).

Se expuso a cultivos de macrófagos procedentes de ratón a altas concentraciones de LDL nativa durante un largo período de tiempo. Se observó que no se producía la captación de las LDL nativas por parte de los macrófagos y consecuentemente, no se producía el acúmulo de ésteres de colesterol (Goldstein J.L. et al. 1979). Al modificar las LDL con anhídrido acético, se observó una entrada masiva de las LDL por endocitosis mediada por la vía del receptor, no respondiendo al control de "feed-back" y originando un acúmulo masivo de ésteres de colesterol en el interior de los macrófagos (Brown M. et al. 1983). La modificación de la LDL, mediante la acetilación (LDL-acetilada), origina el bloqueo del grupo ϵ -amino de los residuos lisina de la apolipoproteína B, ocasionando un incremento en la carga negativa de la LDL acetilada. Esto va a provocar que la LDL acetilada no sea reconocida por el receptor LDL y por lo tanto, no se una a él; aunque si es reconocida por otro receptor distinto llamado receptor de la LDL acetilada o **Scavenger**. Otros tipos de tratamientos de las LDL como acetoacetilación, succinilación, carbamilación y la incubación con malondialdehído (Folgelman A.M. et al. 1980) también transformaron a las LDL y permitió ser reconocidas por el receptor Scavenger.

Henriksen T. et al., observaron que la incubación de LDL con células endoteliales durante una noche, también provocaba una radical modificación de las mismas, observándose que eran captadas rápidamente por los macrófagos y que inducían su transformación en células espumosas. La captación se realizaba por el mismo receptor que las LDL acetiladas (Henriksen T. et al. 1991). En estudios posteriores, se incubó LDL con células de la musculatura lisa y con monocitos-macrófagos, y se observaron modificaciones similares (Heinecke J.W. et al. 1986), (Parthasarathy S. et al. 1986). Estos tres tipos de células se hallan en la pared arterial, lo que significa que son capaces de modificar las LDL, de forma que éstas sean reconocidas por el receptor Scavenger. Posteriormente, se determinó que las modificaciones de las LDL, inducidas por la incubación con dichas células, estaban mediadas por la peroxidación lipídica y, a las partículas resultantes eran reconocidas como lipoproteínas oxidadas.

Al mismo tiempo se vió que la peroxidación de los lípidos, inducida por los radicales libres, originaba LDL citotóxicas (Morel D. et al. 1983), siendo requisito previo la peroxidación de los lípidos para que los macrófagos captaran las LDL (Steinbrecher U.P. et al. 1984). De todas las modificaciones que pueden sufrir las LDL, la oxidación es la más aterogénea y con mayor capacidad citotóxica, pudiendo dañar las células endoteliales, las células de la musculatura lisa y los propios macrófagos. Pero también puede estimular y originar la secreción de las proteínas quimiotácticas, los factores de crecimiento provocando

la lesión del endotelio y la proliferación y reclutamiento celular propios de la lesión ateromatosa (Steinberg D. 1989).

En todos los estudios realizados se ha demostrado que las LDL oxidadas eran reconocidas, y ello originaba la unión con el receptor Scavenger.

Diferentes estudios del proceso intracelular en macrófagos de las LDL oxidadas han demostrado que, a diferencia de las LDL acetiladas, sólo el 50% de la Apo B es degradada por las proteasas de los lisosomas (Sparrow C.P. et al. 1989), (Zhang H. et al. 1990). Esto implica que al no producirse la degradación de las LDL oxidadas se acumulen a nivel de los macrófagos. Se piensa que la resistencia a ser degradadas es, probablemente, consecuencia de la modificación de la Apo B por los productos de la peroxidación lipídica (Lougheed M. et al. 1991).

En cultivos de macrófagos peritoneales procedentes de ratón, se ha visto que éstos no son capaces de reconocer las LDL acetiladas, sin embargo, si reconocen a las LDL incubadas con células endoteliales y oxidadas (Sparrow C.P. et al. 1989). Un estudio diferente al anterior observó la existencia de tres tipos distintos de receptores en cultivos de macrófagos peritoneales de ratón: uno común para la LDL acetilada y oxidadada, otro sólo para la LDL acetilada y por último, uno que reconocía específicamente y se unía con la LDL oxidadada con

cobre (Ari H. et al. 1989).

Se cree que puede existir otro mecanismo en la formación de las células espumosas “in vivo”, mediante la fagocitosis de inmuno complejos LDL por los macrófagos, por la vía del receptor Fc (Klimov A. et al. 1985). Estos inmuno complejos podrían ser consecuencia de la respuesta autoinmune hacia LDL oxidadas (Orekhov A.N. et al. 1991) y, posiblemente, también a las LDL nativas (Gisinger C. et al. 1991). Se ha visto que pacientes con procesos de arteriosclerosis severa tenían inmuno complejos de LDL circulantes. Estos complejos son captados por las células, donde son rápidamente fagocitados por los monocitos-macrófagos, produciéndose el acúmulo intracelular de ésteres de colesterol (Gisinger C. et al. 1991).

1.3.8. ANTIOXIDANTES

Como hemos mencionado, las modificaciones que sufren las partículas de LDL, entre ellas, la oxidación, juegan un papel destacado en el desarrollo de las lesiones ateromatosas. Los antioxidantes tienen un importantísimo papel en la prevención de la oxidación de las LDL.

Diferentes estudios europeos han demostrado la asociación inversa entre la mortalidad, por cardiopatía isquémica y las concentraciones en el plasma de

antioxidantes (Gey F. et al. 1991).

En el plasma humano existen diversos antioxidantes que actúan como mecanismos de defensa. Entre los más importantes debemos reseñar: el α -tocoferol, el licopeno, los β -carotenos, el ácido ascórbico, el urato, la albúmina unida a la bilirrubina, la albúmina, la transferrina y la ceruloplasmina. A nivel extracelular, el superóxido dismutasa y el selenio dependiente de la glutatión dismutasa, la catalasa (Frei B. et al. 1988). Existen otros agentes antioxidantes potentes no fisiológicos utilizados, farmacológicamente, como el probucol.

Durante la peroxidación lipídica, en la fase de iniciación, se produce el consumo de los antioxidantes endógenos. El primero en desaparecer es el α -tocoferol y el último es el β -caroteno. En este período, la peroxidación lipídica observada es mínima, sugiriéndose que los PUFA de las LDL están protegidos por los antioxidantes endógenos (Esterbauer H. et al. 1991). Se ha comprobado que la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL está precedida por una disminución secuencial de los antioxidantes: α -tocoferol, γ -tocoferol, licopeno y el β -caroteno (Estebauer H. et al. 1989). Los PUFA en las LDL están protegidos contra la oxidación por los antioxidantes lipofílicos. El más importante de todos ellos es el α -tocoferol. En cada partícula de LDL encontramos seis moléculas de α -tocoferol. A pesar de que se ha demostrado que el ubiquinol-10 es un antioxidante más potente que el α -tocoferol, sólo un 10 % de las LDL lo

contienen.

Jessup W. et al. en 1990 estudiaron las modificaciones de las LDL producidas por los macrófagos y por los iones de cobre. Vieron que en primer lugar se producía el consumo del contenido endógeno de vitamina E, originándose una aceleración en el proceso oxidativo. Seguidamente, los hidroperóxidos lipídicos descomponían las LDL iniciándose, progresivamente, la modificación y demostrando una mayor unión a otros macrófagos.

Estudios con animales de experimentación, demostró que el suplemento de vitamina E, puede retardar la progresión de las lesiones ateromatosas inducidas por dieta (Janero D. et al. 1990).

En estudios “in vivo” en voluntarios que recibían suplementos orales de α -tocoferol a dosis de 1.45 g durante tres días, se comprobó que la preparación de LDL fue mucho más resistente a ser oxidada, que las LDL del grupo control (Jessup W. et al. 1990). Otro estudio reciente con doce voluntarios, a los cuales, se les administró diferentes concentraciones de RRR- α -tocoferol durante veintiún días, ha permitido ver la eficacia de la vitamina E como protector de las LDL a ser oxidadas; sin embargo, destacaron la gran variabilidad individual (Dieber-Rotheneder M. et al. 1992). A doce voluntarios, a los cuales, se les administró una dosis diaria de 800 IU/día de α -tocoferol, comparándolo con doce voluntarios

del grupo control que tomaron placebo, se observó que los niveles de α -tocoferol habían aumentado a nivel de las LDL y que había disminuido la tendencia a ser oxidadas (Jialal I. et al. 1992).

El probucol fue introducido como fármaco hipolipemiente en 1970, reduciendo los niveles de colesterol total y de colesterol LDL, aunque el mecanismo de actuación no se conoce ampliamente, siendo independiente del receptor (Yamamoto A. et al. 1983). Sin embargo, tiene un efecto considerado como negativo al disminuir también el colesterol HDL. El probucol es vehiculizado en el seno de las partículas lipoproteicas especialmente las LDL. En 1971, Kritchevsky D. et al, demostraron la capacidad del probucol en reducir, de forma importante, las lesiones ateromatosas en animales de experimentación. La administración de probucol en pacientes con hipercolesterolemia familiar homocigota indujo a la regresión de las lesiones cutáneas y tendinosas (Baker S. et al. 1982). Posteriores publicaciones confirmaron estos hallazgos y describieron la no correlación entre la regresión de las lesiones cutáneas y las lesiones ateromatosas con el descenso en los niveles de colesterol (Wissler R.W. et al. 1983).

En 1986, se vio que el probucol inhibía la oxidación inducida por células o por cobre (Parthasarathy S. et al. 1986). El probucol reduce la formación de las lesiones ateromatosas en conejos Watanabe, considerados como el modelo

animal de la hipercolesterolemia familiar (Kita T. et al. 1987). En los conejos diabéticos se ha observado que los productos de la peroxidación lipídica se encuentran elevados. Si administramos probucol o vitamina E a estos conejos, se obtiene un descenso de los peróxidos lipídicos, así como de su citotoxicidad (Morel D. et al. 1989). En células endoteliales vasculares cultivadas y pretratadas con probucol se ha observado que éste, previene la lesión celular inducida por los hidroperóxidos orgánicos y las LDL oxidadas, del mismo modo que ocurre si el pretratamiento se ha realizado con α -tocoferol (Kuzuya M. et al. 1993).

Una hipótesis sobre el mecanismo de acción antiaterogénico del probucol se puede esquematizar de la forma siguiente (Fig.14).

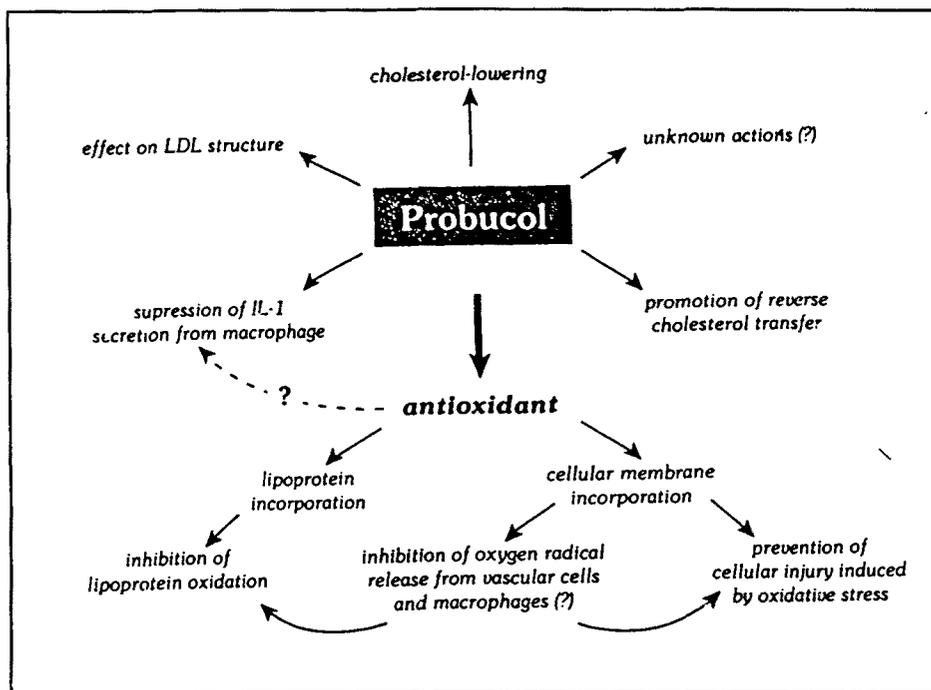


Figura 14. Acción antiaterogénica del probucol.

1.4. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En la actualidad se acepta que la enfermedad coronaria se asocia fuerte e independientemente, a diferentes factores de riesgo: la hipercolesterolemia, los niveles bajos en las lipoproteínas de alta densidad, el tabaquismo, la hipertensión arterial, la diabetes y la obesidad, son los más importantes.

1.4.1. LA HIPERCOLESTEROLEMIA COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En este siglo, la cardiopatía isquémica ha pasado a ser la primera causa de mortalidad en los países industrializados. Ello originó el diseño de diferentes estudios de carácter epidemiológico con la finalidad de determinar los agentes causales.

Uno de los estudios de mayor importancia y trascendencia es el estudio Framingham. Se inició en 1948, con la finalidad de evaluar el estado cardiovascular de 5127 individuos, con edades comprendidas entre los treinta y los sesenta y dos años. Uno de los primeros hallazgos encontrados fue la relación entre los lípidos y la cardiopatía isquémica. El aumento de un 1 % los niveles de colesterol total supondrá un aumento del 2 % del riesgo de sufrir cardiopatía

isquémica. El incremento de la LDL y el descenso de la HDL se relacionaron claramente con un mayor riesgo coronario. Asimismo, un incremento de los triglicéridos se asoció también positivamente, con el riesgo cardiovascular, aunque probablemente dicha correlación no es causal. Distintos estudios de observación epidemiológica han llegado a las mismas conclusiones.

Posteriormente, se llevaron a cabo una serie de ensayos de tipo intervencionista con la finalidad de ver si reducciones en los niveles de colesterol, se acompañaban de una disminución en la incidencia de cardiopatía isquémica.

El estudio de la Administración de Veteranos de Wadsworth, en el cual, se incluyeron un total de 800 veteranos distribuidos en dos grupos aleatorios. A un grupo se le recomendó una dieta baja en ácidos grasos saturados y en colesterol, el otro grupo fue control. Se observó una disminución en un 13% en los niveles de colesterol, así como, una disminución en el número de episodios cardiovasculares a los 8 años de haberse iniciado el estudio (Dayton S. et al. 1969).

En el estudio de Oslo se incluyeron hombres con niveles de colesterol total de aproximadamente 325 mg/dl. Se designaron un grupo control y otro de tratamiento. El tratamiento fue de tipo dietético con la finalidad de reducir los niveles de colesterol y el hábito tabáquico. Se consiguió reducir los niveles de

colesterol en un 12 % y se redujo el consumo de tabaco en un 50%. Tras 90 meses de seguimiento se observó una disminución en la incidencia de episodios cardiovasculares, en un 6% (Hjermann I. et al. 1981).

Un estudio americano de intervención sobre múltiples factores de riesgo, basado en individuos varones de alto riesgo, según el nivel de colesterol plasmático, el hábito de fumar y la hipertensión arterial. Se designaron dos grupos: un grupo control y otro grupo de intervención, en el cual, se controlaban los tres factores de riesgo. El estudio tuvo una duración de seis años. Solamente se observó un descenso en los niveles plasmáticos de colesterol de un 2% respecto al grupo control, no observándose diferencias significativas, lo que se atribuyó a que el grupo control también siguió un tratamiento médico adecuado (American Multiple Factor Risk Intervention Trial, MRFIT 1982).

El Coronary Drug Project (CDP), en el cual, se incluyeron un total de 8000 varones con antecedentes de IAM. Fueron sometidos a tratamiento farmacológico con cinco tipos de fármacos y a placebo de forma aleatoria. Los pacientes que recibieron estrógenos y dextrotirixina tuvieron que ser suspendidos del estudio, al observarse un aumento de mortalidad. El grupo que recibió clofibrato presentó una reducción, no significativa, de la incidencia de cardiopatía isquémica. En el grupo que recibió ácido nicotínico se observó una reducción significativa de infartos no mortales.

En el estudio de la OMS se trataron 15745 varones sanos con clofibrato. Se observó la reducción del 9% en las cifras de colesterol y se registró una reducción significativa de cardiopatía isquémica. Apareció un aumento de los cálculos biliares, así como, elevación de la mortalidad de causa inespecífica (WHO 1980).

En los estudios de intervención han sido utilizados diferentes fármacos hipolipemiantes (clofibrato, ácido nicotínico, colestiramina, colestipol y gemfibrozil) Entre ellos el Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial (LRC-CPPT). Se incluyó a varones de treinta y cinco a cincuenta y nueve años de edad con niveles de colesterol superiores a los 265 mg/dl. Se les indicó una dieta modificada. A los pacientes que no respondieron y presentaban niveles de LDL superiores a 175 mg/dl se les indicó tratamiento con colestiramina. Se observó la reducción del 9% del colesterol al cabo de siete años de seguimiento. La reducción observada en los episodios cardiovasculares fue de un 19% (The Lipid Research Program 1984).

El estudio Helsinky consistió en estudio a doble ciego de más de 4000 individuos varones. Un grupo tratado con gemfibrocilo y el otro con placebo. El grupo que recibió tratamiento con gemfibrocilo disminuyó en un 8% los niveles de colesterol total, 9% el colesterol LDL, un 40% los triglicéridos y un aumento del 11% a nivel del colesterol HDL. Ello originó la reducción en un 34 % de

incidencia de cardiopatía isquémica (Frick M. et al. 1987).

El Bogalusa Heart Study es un estudio multicéntrico de adultos jóvenes que demuestra una importante relación entre los factores de riesgo coronario, como el tabaco y las lipoproteínas, con trastornos anatómicos de los vasos coronarios. Se inició en 1973, y en la actualidad, están incluidos un total de 12000 individuos. Su finalidad es estudiar los factores de riesgo cardiovascular desde el nacimiento hasta los treinta y un años de edad. Los individuos fallecieron mayoritariamente de causa accidental. Se practicó la autopsia a 150 personas entre los seis a los treinta años. Se observó una relación muy importante entre la presencia de estrías grasas en la arteria aorta, con los niveles de colesterol total, colesterol LDL y índice ponderal premortem en sujetos varones de raza blanca. La presencia de estrías grasas en la arteria coronaria se relacionó, significativamente, con los niveles plasmáticos de triglicéridos, VLDL, presión arterial y índice ponderal en sujetos de raza blanca (Berenson G.S. et al. 1992).

Es indiscutible, por las numerosas evidencias existentes en la literatura, que la reducción del colesterol LDL disminuye el riesgo de cardiopatía isquémica, por lo que dicho factor está considerado como uno de los principales factores primarios de riesgo coronario.

1.4.1.1. HIPERLIPEMIA, OXIDACION LIPOPROTEICA Y RIESGO CORONARIO

La hipercolesterolemia es el factor de riesgo más importante en la inducción de la aterogénesis. La lipoproteína de baja densidad (LDL) es la más aterogénica de todas ellas. “In vivo” la lipoproteína LDL puede sufrir diferentes modificaciones siendo la oxidación la más importante por su transcendencia. Como ya hemos comentado, las LDL oxidadas son captadas rápidamente por los macrófagos, originando la formación de las células espumosas, pero además, las LDL oxidadas afectan al metabolismo de la pared arterial.

El estudio de la oxidación de las lipoproteínas, así como, de sus implicaciones, ha motivado un campo nuevo en investigación, en los últimos años.

Recientemente, se ha estudiado la relación entre la resistencia a la oxidación “in vitro” y la severidad de la arteriosclerosis coronaria, en pacientes jóvenes supervivientes de IAM. Observándose que la duración de la fase de peroxidación de las LDL “in vitro” y la concentración de las LDL, se correlacionaban, independientemente, con la severidad de la arteriosclerosis coronaria. Además, se asoció la mayor tendencia a la oxidación de las LDL, con una mayor severidad en la arteriosclerosis coronaria (Regnström J. et al. 1992).

Lipoproteínas VLDL, LDL y HDL procedentes de pacientes hipercolesterolémicos fueron oxidadas “in vitro” mediante su incubación con iones de cobre. Se objetivó que la LDL era la lipoproteína que se oxidó en mayor proporción, siendo en un 71%, seguida de las HDL en un 54% y por último, las VLDL en un 44%. También pudo observarse que el contenido de sustancias antioxidantes habían disminuido significativamente en los pacientes hipercolesterolémicos en comparación con el grupo control (Lavy A. et al. 1991). Las subpoblaciones de LDL más densas se han correlacionado con una mayor capacidad aterógena y, además, se ha comprobado que son precisamente estas partículas las que poseen una mayor susceptibilidad a la oxidación. Recientemente, se ha sugerido que la oxidación de las HDL también pueden contribuir al desarrollo de la arteriosclerosis al disminuir el eflujo de colesterol desde las células espumosas. En las HDL de los pacientes tratados con probucol, se observa un aumento del eflujo de colesterol, desde las células espumosas (Kita T. et al. 1992).

La inhibición de la oxidación de las LDL contribuiría a la inhibición del proceso aterogénico (Parthasarathy S. et al. 1992). Existen numerosos estudios en la literatura que muestran la inhibición de la oxidación de las LDL “in vitro” e “in vivo”. El fármaco más ampliamente utilizado es el probucol. Su vida media es relativamente larga, siendo transportado en la sangre por las LDL.

La administración de probucol en la dieta de los conejos WHHL, utilizados como modelo animal de la hipercolesterolemia familiar en humanos, demostró evitar la progresión de las lesiones ateromatosas en ausencia significativa en la reducción de los niveles de LDL (Kita T. et al. 1987). Otro estudio de similares características ponía de manifiesto la reducción significativa en el desarrollo de las estrías grasas en el grupo de conejos tratados con probucol en comparación a los tratados con lovastatina y al grupo control (Carew T. et al. 1987).

Se ha demostrado que la administración de probucol a conejos hipercolesterolémicos produce una menor susceptibilidad de las LDL a ser oxidada "in vitro" (Parthsathy S. et al. 1989). El mismo estudio ha sido realizado con pacientes hipercolesterolémicos. Los pacientes fueron divididos en dos grupos. A uno de ellos se le administró probucol a dosis de 1 g/día, al otro, una una dosis de 250 mg/día durante un período de seis meses. Se estudió la susceptibilidad a la oxidación "in vitro" de las LDL. Se observó una disminución de la oxidación de las LDL mediada por el cobre o por las células endoteliales en relación con la cantidad de probucol presente en las LDL. Un dato interesante es la correlación observada entre la disminución del colesterol HDL con el contenido de probucol en las LDL y su efecto protector (Reaven P.D. et al. 1992).

La utilización de dietas en las que se sustituyen los ácidos poliinsaturados por ácidos grasos monoinsaturados en conejos, fueron consideradas como beneficiosas, no sólo por el descenso en los niveles de colesterol plasmático, sino por la gran resistencia que muestran las LDL a ser oxidadas (Parthasarathy S. et al. 1990). A un grupo de voluntarios se les administró una dieta rica en ácido oleico (monoinsaturado) y a otro grupo en ácido linoleico (poliinsaturado). Se objetivó un descenso en los niveles plasmáticos de colesterol sin diferencias significativas entre los dos grupos. Sin embargo, en el grupo con dieta rica en ácido monoinsaturado se observó un incremento a la resistencia a la oxidación de las LDL en el plasma, hallando diferencia significativa entre ambos grupos, con independencia del contenido de antioxidantes (Bonanome A. et al. 1992).

Estos datos hacen pensar que, uno de los hechos que pueden mediar la acción de la hipercolesterolemia, como factor de riesgo, puede ser una mayor susceptibilidad de las partículas lipoproteicas de estos pacientes a la oxidación.

1.4.2. LA DIABETES COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Como ya es sabido la causa de muerte más frecuente en los pacientes diabéticos no insulino dependiente (DMNID) es la cardiopatía isquémica. El riesgo relativo para las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas en la

diabetes no insulino dependiente (DMNID) es de dos a cuatro veces mayor que al de la población no diabética. En el estudio Framingham se observó que el riesgo relativo de muerte por cardiopatía isquémica en pacientes DMNID fue 2.1 en hombres y 4.9 en mujeres (Garcia M. et al. 1974). En el Diabetes Intervention Study el riesgo relativo de muerte por cardiopatía isquémica fue 2.7 en hombres y de 6.2 en mujeres (Hanefeld M. et al. 1991).

En el estudio poblacional de Erfurt el índice de mortalidad variaba entre 2.17 y 0.97 en función de la edad en que aparecía la enfermedad (Panzram G. et al. 1981). Lo que suponía que la esperanza de vida disminuía de cinco a siete años cuando la diabetes se detectaba de los cuarenta a los cincuenta años. Siendo la enfermedad coronaria la causa principal de muerte (Pyörälä K. et al. 1987). Es importante reseñar que debido a que muchos de los pacientes afectados de DMNID presentan una neuropatía autónoma diabética, muchos de los IAM son silenciosos, aproximadamente el doble que en los individuos no diabéticos.

Sin embargo, en los pacientes afectados la DMNID no suele ser el único factor de riesgo coronario que presentan. La obesidad está asociada desde un 50 % hasta un 90 % en función del sexo y la edad (Zimmet P. et al. 1992). La hipertensión en un 50 % aumentando con la edad y el índice de masa corporal, siendo las mujeres las más afectadas. La presión sistólica es un buen indicador de riesgo coronario, a diferencia de la presión diastólica, que está más relacionada

con la nefropatía (Janka H. et al. 1985). La hiperlipemia se encuentra asociada entre un 40 y un 60 %. La alteración más frecuente es la hipertrigliceridemia, también se ha observado que entre un 20 y 40 % presentan disminución de las HDL, pero además, se han detectado alteraciones en su composición y función (Assmann G. et al. 1989). Se ha descrito que el aumento en la concentración de la Apo-B y el descenso de la Apo-A contribuye a aumentar la prevalencia de la cardiopatía isquémica (Rönemaa T. et al. 1989). Estos factores de riesgo asociados a la DIMND tienen una prevalencia entre tres y seis veces mayor que en la población general.

En los pacientes diabéticos se ha observado una mayor rapidez en la formación de procesos de aterosclerosis. Se ha especulado que intervienen diversos mecanismos, pero una de la hipótesis implica la modificación oxidativa de las LDL y la glicosilación (Lyons T. 1991).

1.4.2.1. DIABETES, OXIDACION LIPOPROTEICA Y RIESGO CORONARIO

La glucosa en condiciones fisiológicas es capaz de producir autooxidación dando lugar a la formación de radicales libres y de peróxido de hidrógeno.

Se ha observado un incremento en radicales libres en pacientes diabéticos

y su relación con los niveles de glicosilación de las proteínas plasmáticas, habiéndose normalizado al controlarse los niveles de glucosa (Ceriello A. et al. 1991).

Existe la evidencia de que la diabetes se acompaña de un aumento en la peroxidación lipídica y que la hiperglicemia puede acelerar la oxidación (Baynes J.M. et al. 1991). Esta evidencia esta apoyada, en el hecho, de que la oxidación de la LDL está aumentada “in vitro” en presencia de la glucosa (Hunt J. et al. 1990). Se han encontrado niveles elevados de lípidos oxidados circulando en plasma, así como, depositados en los tejidos de pacientes diabéticos, siendo particularmente elevados en los pacientes diabéticos mal controlados y, en aquellos que presentaron angiopatía.

Existen varias teorías que intentan explicar el motivo, por el cual, los niveles de peroxidación lipídica están elevados en los pacientes diabéticos. Una de las hipótesis sugiere que el incremento en la actividad del sorbitol conducirá a un incremento en el consumo de NADPH. Este es necesario para la regeneración de los antioxidantes (Barnett P. A. et al. 1986). Otra propuesta señala que como los pacientes diabéticos tienen una mayor predisposición a padecer infecciones, produciéndose un incremento en la actividad leucocitaria y, por lo tanto, originando más fagocitosis, desencadenándose la oxidación (Hiramatsu K. et al. 1988). Hicks et al, demostraron que la glucosa y la

glicosilación pueden catalizar la peroxidación de ácido linoleico y del ácido araquidónico “in vitro”, sugieren que un efecto similar puede acelerar la peroxidación lipídica en presencia de diabetes (Hicks M. et al. 1988).

Sato, por primera vez en 1979, midió los productos de peroxidación lipídica circulantes en diabéticos. Observando que los productos de peroxidación lipídica estaban incrementados, aunque solamente en los pacientes mal controlados o bien, en aquellos pacientes con angiopatía (Sato Y. et al.1979). Este hallazgo fue confirmado posteriormente por (Nishigaki I. et al. 1981).

La lesión celular y el daño de los tejidos en los pacientes diabéticos pueden, inicialmente, ser causados por la elevación de los productos de peroxidación lipídica y de los radicales libres pudiendo ser la base patológica de algunas de sus manifestaciones (Guy M. et al. 1992).

En un estudio realizado por Guy et al., en el que se utilizaron como modelo experimental ratas diabéticas, inducidas por estreptozotocina, midieron los niveles de peroxidación, y posteriormente, se les administró probucol. La oxidación y la citotoxicidad de las lipoproteínas habían sido inhibidas por dicho fármaco (Guy M. et al. 1988).

Este mismo grupo demostró la correlación entre el incremento de la

oxidación en animales de experimentación diabéticos “in vivo” con la citotoxicidad de las lipoproteínas “in vitro”. Las lipoproteínas oxidadas citotóxicas fueron las VLDL y las LDL. La HDL aunque mostró niveles pequeños de oxidación, no fue citotóxica. La administración de vitamina E o de probucol inhibió la citotoxicidad inducida por las lipoproteínas oxidadas (Morel D. et al. 1989).

1.4.3. LA OBESIDAD COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Una de las conclusiones del estudio Framingham tras el seguimiento durante veintiséis años de sus participantes, fue que la obesidad por sí sola constituía un factor de riesgo cardiovascular independiente (Hubert M.B. et al. 1983). Pero el riesgo cardiovascular se incrementaba en relación a la severidad del sobrepeso. Se ha constatado que un índice de masa corporal superior a treinta y cinco dobla el riesgo de mortalidad cardiovascular en el obeso. Sin embargo, el índice de mortalidad disminuye en la obesidad importante a partir de los cincuenta y cinco años, no siendo detectable a partir de los ochenta años (Sjostrom L.V. 1992). Estos pacientes suelen presentar otros factores de riesgo asociados, como la hipertensión, la resistencia a la insulina y diabetes mellitus, hipertrigliceridemia, disminución del colesterol HDL y aumento de LDL.

La prevalencia de sobrepeso en la población de Estados Unidos es estimada entre el 25-45%. Las mujeres de raza negra y las de origen hispano son las más afectadas. Esto conlleva que en la actualidad se considere como un problema de salud pública muy importante (Sichieri R. et al. 1992). La obesidad se produce cuando el balance entre la ingesta calórica y gasto energético es positivo. Ello originará un aumento de la masa adiposa a consecuencia del aumento del número y tamaño de las células. Tras un tratamiento de adelgazamiento sólo será posible lograr reducir el tamaño de las células, no así, su número (Digirolamo M. 1991).

La distribución abdominal de la masa de tejido adiposo se ha relacionado más intensamente con los factores de riesgo cardiovascular, que con la localización glúteo femoral, ya que parece predisponer a alteraciones metabólicas aumentando la incidencia de diabetes mellitus (Seidell J.C. et al. 1989) (Pi-Sunyer F.X. 1991).

Se han estudiado las posible causas del elevado riesgo cardiovascular en pacientes obesas con glicemia normal, con curva de glucosa alterada y con DMNID, antes y después de practicarles un baypass gástrico. Se observó que dicho riesgo era mayor en las pacientes obesas con curva de glucosa patológica y en la DMNID, debido al elevado número de lipoproteínas LDL de pequeño tamaño antes de la intervención independientemente a la presencia de otros

factores. Tras la intervención, se objetivó el descenso en el índice de quetelet, en la hipertrigliceridemia y en los niveles de insulina. Las partículas de LDL aumentaron en tamaño no observándose variaciones en los niveles plasmáticos de colesterol y colesterol LDL. Además, las HDL aumentaron, con lo que se conseguía un perfil metabólico de menor riesgo, desde el punto de vista cualitativo (Barakat H.A. et al. 1990).

1.4.4. EL TABACO COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Estudios prospectivos han demostrado que los varones fumadores de más de veinte cigarrillos al día presentan un riesgo de morir, como consecuencia de cardiopatía isquémica tres a cuatro veces más, que los no fumadores. Los fumadores presentan mayor riesgo de sufrir un accidente vascular cerebral y síntomas de claudicación intermitente. La muerte súbita de origen cardíaco es tres veces más frecuente en fumadores.

Datos procedentes del estudio de Framingham, hicieron pensar que este factor de riesgo era menor en la población anciana, desde el punto de vista coronario. En cambio, estudios más recientes parecen indicar que el tabaco sigue siendo un factor de riesgo importante, incluso, a edades de más de setenta y cinco años. Ancianos fumadores tienen un riesgo de mortalidad por cardiopatía

isquémica de 53% superior a los ancianos no fumadores (Jajich C.L. et al. 1984). El estudio Coronary Artery Surgery Study (CASS), pone de manifiesto el beneficio que se obtiene, incluso, en edades avanzadas, al abandonar el hábito tabáquico (Hermanson B. et al. 1988).

1.4.4.1. TABACO Y OXIDACION LIPIDICA

No se conoce el mecanismo interno exacto, por el cual, el tabaco produce una aceleración en el proceso de la arteriosclerosis. Además de acciones citotóxicas directas sobre el endotelio, se cree que el tabaco también actúa a nivel de las lipoproteínas. Se ha observado que en los individuos fumadores existen cambios mínimos en las lipoproteínas plasmáticas. Estas modificaciones originarían su captación celular, a través del receptor Scavenger, produciendo la formación de células espumosas.

Existen datos en la literatura que sugieren la existencia de elevados niveles plasmáticos de sustancias que reaccionan con el TBA.

En un estudio experimental en ratones, a los cuales, les fue suplementada su dieta con nicotina durante un período de veinticinco semanas, se pudieron objetivar cambios morfológicos ateromatosos a nivel del endotelio del arco aórtico (Booyse F.M. et al. 1981). En un estudio con las mismas condiciones

experimentales que el anterior, se pudo comprobar que la actividad de mitosis a nivel de endotelio vascular fue mayor en el grupo tratado (Zimmerman M. et al. 1985). El mismo autor, dos años más tarde, observó que la nicotina actúa sobre el endotelio lesionándolo y originando un aumento de su permeabilidad (Zimmerman M. et al. 1987).

A un grupo de diecisiete fumadores se les determinaron las sustancias que reaccionaban con TBA en plasma y LDL, tras cuarenta y ocho horas de abstinencia de tabaco, y al cabo de noventa minutos de haber consumido entre cinco y diez cigarrillos. Se objetivó una elevación significativa en los niveles de oxidación antes y después del consumo de cigarrillos. A estos mismos pacientes se les administró vitamina C y vitamina E durante un período de dos a cuatro semanas. No observando posteriormente, diferencias entre ambos períodos (Harats D. et al. 1990). En otro estudio, con un grupo de dieciséis fumadores entre los veintitrés y los cincuenta y seis años de edad y a su grupo control, se les determinaron los niveles de sustancias que reaccionaban con TBA en plasma y LDL, no observando diferencias significativas. Sin embargo, las lipoproteínas de los fumadores eran más susceptibles a su modificación por las células SMC (Harats D. et al. 1989). Se ha comunicado que la ingesta de aceite de pescado, tanto en fumadores como en no fumadores, provoca una elevación importante, no sólo en los productos de peroxidación lipídica, sino en la captación de las LDL por los macrófagos (Harats D. et al. 1991).

2. OBJETIVOS

- 1- Estudiar los niveles de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL en un grupo de población general y en sujetos con factores de riesgo cardiovascular.

- 2- Estudiar los niveles de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL en pacientes hipercolesterolémicos.

- 3- Valorar las modificaciones de la peroxidación lipídica en plasma y LDL en pacientes hipercolesterolémicos tratados con probucol.

- 4- Estudiar los niveles de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL en pacientes diabéticos.

- 5- Estudiar los niveles de peroxidación lipídica en plasma en pacientes con obesidad mórbida.

- 6- Valorar los cambios en los niveles de peroxidación lipídica en plasma inducidos por una dieta muy baja en calorías.

- 7- Valorar los niveles de peroxidación lipídica en plasma y LDL en relación a la edad.

8- Valorar los niveles de peroxidación lipídica en plasma y LDL en relación al consumo de tabaco.

3. METODOS

3.1. PLANIFICACION GLOBAL DEL ESTUDIO

Se seleccionaron un total de ochenta y tres pacientes (37 ♂ y 46 ♀) con edades comprendidas entre los veintitrés y los sesenta y cuatro años, que acudían a control a la Unidad de Lípidos y de Enfermedades metabólicas del Hospital de “Sant Joan de Reus”. Estos pacientes estaban afectos de hipercolesterolemia aislada (n=33), diabetes tipo II (n=25) y obesidad mórbida (n=25).

Asimismo, se reclutaron un total de noventa y tres individuos sanos (58 ♂ y 35 ♀) con edades comprendidas entre los diecisiete y los ochenta y ocho años.

En ambos grupos se determinaron los valores lipídicos y fracciones lipoproteicas así como los valores de peroxidación lipídica en plasma y LDL.

En los pacientes, dicha determinación, se realizó tras un período dietético “wash out” de dos meses. Se incluyeron en el análisis final sólo aquellos que cumplían los criterios de inclusión preestablecidos.

En el grupo de pacientes hipercolesterolémicos y en el grupo de pacientes obesas, los parámetros lipídicos y de peroxidación lipídica fueron determinados,

además, después de un período de intervención terapéutica. En los pacientes hipercolesterolémicos a las doce y veinticuatro semanas de haber recibido tratamiento con probucol. En el caso de las pacientes con obesidad mórbida, a las tres semanas de seguir una dieta altamente hipocalórica.

A todos ellos se les informó de manera individualizada del objetivo del estudio y se les solicitó la autorización pertinente.

3.1.1. INTERVENCION FARMACOLOGICA Y DIETETICA

3.1.1.1. PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS

Tras un período de dos meses de “wash out”, el grupo de veinticinco pacientes hipercolesterolémicos que reunieron los criterios de inclusión, previa extracción sanguínea, fueron sometidos a tratamiento farmacológico con probucol a dosis de 1 g/día durante un período de veinticuatro semanas, realizándose nuevas extracciones a la doce y veinticuatro semanas de tratamiento, para el control de los parámetros lipídicos y de oxidación lipídica en plasma y LDL.

3.1.1.2. PACIENTES CON OBESIDAD MORBIDA

Tras un período dietético ambulatorio de dos meses, se incluyeron en el estudio aquellas pacientes que reunieron los criterios de ingreso para ser sometidas a una dieta VLCD. Las pacientes fueron ingresadas en el Servicio de Medicina Interna de nuestro hospital durante un período de veintiún días.

Durante su ingreso, las pacientes se sometieron a una dieta muy baja en calorías e hiperproteica (VLCD)(MODIFAST)(ver tabla 4 de composición). Las pacientes podían consumir libremente agua o bien infusiones, en una cantidad mínima de 2.500 ml/día. Todas ellas realizaron, al menos, una hora diaria de ejercicio físico.

Al ingreso y a los veintiún días se realizó una nueva extracción de sangre para la determinación de los parámetros lipídicos y de peroxidación en plasma.

Tabla 4

COMPOSICION DE LA DIETA ADMINISTRADA

COMPOSICION	POR 100 g	POR DIA
Proteínas(g)	43.3	52
Grasas(g)	5.8	7
Hidratos de carbono(g)	37.5	45
Energía(kcal)	381	458
Cenizas(g)	8.3	10
Minerales y oligoelementos		
Sodio(mg)	830	1.000
Potasio(mg)	1.670	2.000
Calcio(mg)	750	900
Magnesio(mg)	290	350
Fósforo(mg)	670	800
Cloro(mg)	1.000	1200
Hierro(mg)	15	18
Cobre(mg)	2.1	2.5
Manganeso(mg)	2.5	3
Cinc(mg)	12.5	15
Flúor(mg)	1.6	2
Iodo(mg)	125	150
Cromo(μ g)	83.3	100
Molibdeno(μ g)	167	200
Selenio(μ g)	62.5	75
Vitaminas		
A (retinol) (mg)	0.83	1
D ₃ (coleciferol) (μ g)	4.17	5
E (d- α -tocoferol) (mg)	10	12
K ₁ (μ g)	83.3	100
B ₁ (μ g)	1.33	1.6
B ₂ (μ g)	1.67	2
B ₆ (μ g)	1.67	2
B ₁₂ (μ g)	2.5	3
C (mg)	62.5	75
Biotina (μ g)	167	200
Acido fólico (μ g)	333	400
Nicotinamida (mg)	15	18
Acido pantoténico (mg)	6.67	8

3.2. DESCRIPCIÓN DE LOS INDIVIDUOS DEL ESTUDIO

3.2.1. PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS

De los treinta y tres pacientes hipercolesterolémicos reclutados en el estudio tras el período dietético, se incluyeron un total de veinticinco pacientes (10 ♂ y 15 ♀) con edades comprendidas entre los (52.27 ± 12.0) años.

Los criterios de inclusión utilizados fueron: 1) Niveles de colesterol en plasma superiores a 6.5 mmol/L. 2) Niveles de triglicéridos en plasma inferiores a los 4 mmol/L.

Se excluyeron a todos los pacientes hipercolesterolémicos con procesos concomitantes capaces de alterar el perfil lipídico (diabetes, embarazo, neoplasias, alteraciones tiroideas, enfermedades crónicas, cardiopatía isquémica, enfermedad vascular periférica, hipertensión arterial), también aquellos pacientes con ingesta de fármacos con capacidad de alterar el perfil lipídico (corticoides, diuréticos, betabloqueantes, anticonceptivos etc.), así como los pacientes que habían seguido tratamientos previos con probucol.

Se confeccionó una historia clínica y se practicó una exploración física

completa con la determinación de los datos antropométricos (peso, talla, índice de quetelet).

Todos los pacientes abandonaron su medicación hipolipemiente habitual durante dos meses, controlándose que la dieta isocalórica e hipolipemiente se siguiera de forma correcta, según las recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis.

3.2.2. PACIENTES DIABETICOS

De los veinticinco pacientes diabéticos reclutados en el estudio tras el período dietético, se incluyeron un total de veinte pacientes (9 ♂ y 11 ♀) con edades comprendidas entre los (55.42±5.79) años.

Se utilizaron como criterios de inclusión: 1) El haber sido diagnosticados de diabetes tipo II al menos un año antes del estudio. 2) Edad comprendida entre los cuarenta y sesenta y cinco años. 3) Niveles de colesterol total inferiores a 6.4 mmol/L. 4) Niveles de triglicéridos en plasma inferiores a los 4 mmol/L. 5) Hb A₁C inferior al doble del límite normal.

Fueron excluidos los pacientes con procesos crónicos concomitantes (hipertensión arterial, diabetes tipo I, cardiopatía isquémica, trastornos hepáticos,

nefropatía, neoplasias, pancreatitis crónica), y aquellos con ingesta de fármacos con capacidad de alterar el metabolismo lipídico (diuréticos, betabloqueantes, anticonceptivos corticoides), índice de quetelet superior a treinta y aquellos pacientes tratados con insulina.

Se confeccionó una historia clínica y se practicó una exploración física completa con la determinación de los datos antropométricos (peso, talla, índice de quetelet).

Todos los pacientes abandonaron su medicación hipolipemiente habitual durante dos meses, controlándose que la dieta isocalórica e hipolipemiente se siguiera de forma correcta, según las recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis.

3.2.3. PACIENTES CON OBESIDAD MORBIDA

Se reclutaron un total de veinte pacientes diagnosticadas de obesidad mórbida con edades comprendidas entre los (36.25 ± 11.33) años.

Se utilizaron como criterios de inclusión: 1) No haber respondido correctamente a una dieta hipocalórica indicada ambulatoriamente.

Se excluyeron las pacientes con obesidad secundaria, diabetes mellitus, hipertensión arterial, bulimia y la ingesta de fármacos con capacidad de alterar el perfil lipídico (anticonceptivos, diuréticos, betabloqueantes, hipolipemiantes).

Se confeccionó una historia clínica y se practicó una exploración física completa con la determinación de los datos antropométricos (peso, talla, índice de quetelet, cociente cintura cadera).

3.2.4. GRUPO GENERAL

Se reclutaron un total de noventa y tres individuos sanos (58 ♂ y 35 ♀) distribuidos en tres grupos de edades: inferior a los treinta años (jóvenes), entre los treinta a los sesenta y cuatro años (edad intermedia) y por último con edades superiores a los sesenta y cinco años (ancianos).

El grupo de jóvenes está constituido por veintisiete varones con edad media (19.07 ± 2.21) que estaba realizando el servicio militar en la Base Aérea de Reus.

El grupo de edad intermedia está formado por un total de treinta y cinco individuos sanos (19 ♂ y 16 ♀) con edad media (52.69 ± 8.49) que acudían a control después de un proceso de patología banal en un centro de asistencia

primaria de nuestra ciudad.

Este grupo ha sido utilizado como control para las comparaciones con los pacientes hipercolesterolémicos, diabéticos y obesas. Y finalmente, el último grupo formado por treinta y un ancianos (12 ♂ y 19 ♀) con edad media (79.61 ± 8.29) internos en la Residencia del “Alt Camp” de la ciudad de Valls.

No se incluyeron en este grupo a individuos con historia de dislipemia, diabetes tipo II, alteraciones tiroideas, enfermedades crónicas, hipertensión arterial, ingesta de fármacos con capacidad de alterar el perfil lipídico (diuréticos, betabloqueantes, anticonceptivos, hipolipemiantes, corticoides), índice de quetelet superior a 30 kg/m^2 .

Se confeccionó una historia clínica y se practicó una exploración física completa con la determinación de los datos antropométricos (peso, talla, índice de quetelet).

3.3. RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

Tras un período de ayuno no inferior a las doce horas y mediante punción venosa periférica manteniendo el éstasis venoso, el mínimo de tiempo

indispensable, se obtenía 20 cc de sangre utilizándose dos tubos de 10 cc que contenía 1 mg/ml de EDTA como anticoagulante y antioxidante.

Las muestras a su llegada al laboratorio, eran centrifugadas a 2000 rpm, a 4°C durante 10 min. Tras la separación del plasma, éste, era repartido en diferentes alícuotas: 2 ml para medición de colesterol y triglicéridos totales, 2 ml para fraccionamiento lipoproteico, 5 ml para medir HDL y 500 µl de plasma con 5 µl de una solución antioxidante (EDTA:13,4 mmol/L y Glutation: 6,5 mmol/L) para la medición posterior de la peroxidación en plasma, almacenándose a -70°C durante un período no superior a los tres meses. Tras la obtención de la fracción LDL se guardaba 500 µl junto con 5 µl de una solución antioxidante (EDTA:13,4 mmol/L y Glutation: 6,5 mmol/L) para la medición de la peroxidación en LDL, almacenándose a -70°C durante un período no superior a los tres meses.

3.4. TECNICAS DE LABORATORIO

3.4.1. FRACCIONAMIENTO LIPOPROTEICO

Para la obtención del perfil lipoproteico se utilizó el método de la centrifugación secuencial preparativa (Havel R.J. et al. 1955), basado en la capacidad de flotación de las diferentes partículas lipoproteicas sometidas a una

fuerza de centrifugación. El proceso se inicia separando las partículas de densidad más baja. Se va incrementando posteriormente la densidad hasta la flotación de las partículas más densas. La ultracentrífuga utilizada es un modelo Teknicon T-1055 (Kontron, Suiza) y un rotor 45.6 (Kontron, Suiza) trabajando con tubos de polialomero de capacidad 6 ml.

Los pasos utilizados en cada una de las muestras de plasma son los siguientes:

1-Para la separación de las VLDL. Sobre los 2 ml de plasma se añadía 3 ml de una solución de densidad 1.006 Kg/L en capa y se centrifugaba a 105.000 x g durante un período de tiempo de 20 horas a 4°C. Seguidamente se recogían 2 ml del sobrenadante, donde se encontraban las lipoproteínas de densidad inferior a 1.006, es decir, las VLDL.

2-Para la separación de la IDL. A los 3 ml que quedaban en el tubo se le añadía una solución de densidad 1.006 hasta completar los 4 ml. El siguiente paso consistía en separar las lipoproteínas de densidad entre 1.006 y 1.019 Kg/L, por ello, se añadía 1 ml de densidad 1.071. Se centrifugaba durante 16 horas obteniéndose en 2 ml las IDL.

3-Para la separación de las LDL. Se repetía el mismo proceso anterior, pero ahora, para separar las lipoproteínas de densidad entre 1.019 y 1.053 Kg/L. Por ello se añadía 1 ml de densidad 1.239. Tras la centrifugación se obtenían 2 ml de sobrenadante donde se encontraban las LDL.

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Solución conservante

EDTA 13,4 mmol/L

Glutación 6,5 mmol/L

Se utilizó 1 μ l por cada 100 μ l de muestra.

Soluciones densidad

densidad 1.006

20.7 g NaCl.
0.2 g EDTA.Na₂.
2 ml NaOH 1 M.
2 l H₂O.

densidad 1.239

328 g NaBr.
1 l H₂O.

densidad 1.019

4:1 soluciones densidad 1.006:1.071.

densidad 1.063

4:1 soluciones densidad 1.019:1.291.

densidad 1.071

4:1 soluciones densidad 1.239:1.019.

densidad 1.291

410 g NaBr.
1 l de solución 1 063 Kg/L.

Ecuaciones para la ultracentrifugación secuencial

- 1) Ecuación de Radding-Steinberg (Radding CHM y Steinberg D, 1960).

$$V_o D_o + X = d(V_o + V_x)$$

V_o es el volumen inicial en ml; D_o es la densidad inicial; d es la densidad final o deseada; V_x es el volumen específico aparente de NaBr a la densidad final.

- 2) Ecuación de Havel (Havel R.J. et al. 1.955).

$$(A \times Y) + (B \times Z) = (A + B) \times D$$

A es el volumen de suero ($d=1.006$) o infranadante. B es el volumen de la solución densidad; Y es la densidad de la muestra que ha de ser modificada; X la densidad de la solución de densidad; Z la densidad de la mezcla o densidad deseada.

3.4.2. PRECIPITACION SELECTIVA PARA LAS HDL

Aprovechando los diferentes tamaños y composición de las lipoproteínas y mediante la utilización de sustancias que favorezcan la precipitación selectiva, podemos separar las HDL del resto de lipoproteínas. Se añade una solución A que contiene polyethylene glycol (PEG) al plasma. Ello dará lugar a la precipitación de las sustancias portadoras de Apo-B, es decir, LDL y VLDL.

Los pasos utilizados fueron los siguientes:

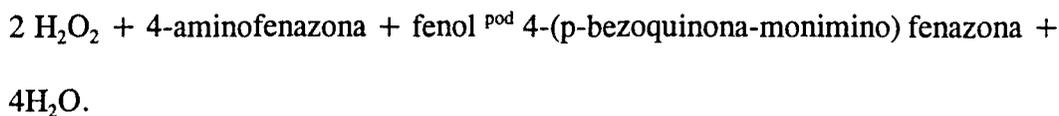
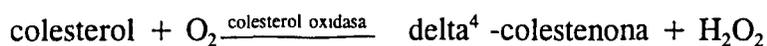
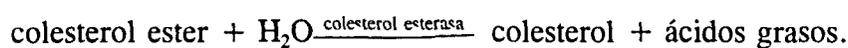
- 1- A 100 μ l de plasma se le añade 200 μ l de solución A (PEG).
- 2- Se deja durante 10 min a temperatura ambiente.
- 3- Se centrifuga a 3000 rpm durante 10 min a 20°C.
- 4- Se separa el sobrenadante y se procede a su lectura.

3.4.3. ANALISIS BIOQUIMICOS

Para la medición de las concentraciones de los diferentes componentes lipoproteicos del plasma se utilizaron, como solución estándar, Precilip E.L. (Boehring Mannheim GmbH). Todas las mediciones se obtuvieron mediante la utilización de un autoanalizador COBAS-MIRA (Roche, Suiza).

3.4.3.1. MEDICION DEL COLESTEROL TOTAL

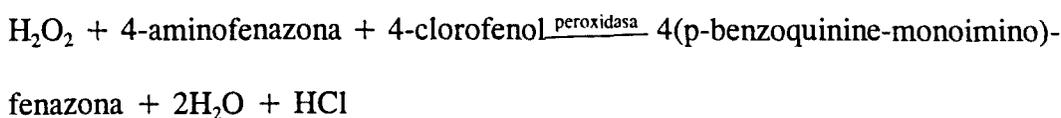
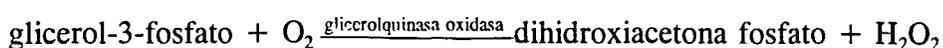
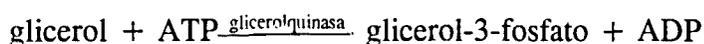
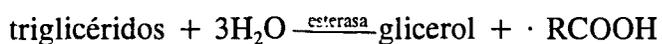
Se cuantificó el colesterol total (esterificado y no esterificado) mediante el método enzimático de CHOD-PAP (Siedel J. et al. 1981). Las reacciones implicadas son las siguientes:



La absorbancia se leyó con una longitud de onda de 500 nm.

3.4.3.2. MEDICION DE LOS TRIGLICERIDOS

Se utilizó para la cuantificación de los triglicéridos el método GPO-PAP. Es colorimétrico y enzimático (Wahlefeld A.W. et al. 1974). Las reacciones implicadas son las siguientes:



La absorbancia se leyó con una longitud de onda de 500 nm.

3.4.4. MEDICION DE LA PEROXIDACION LIPIDICA

3.4.4.1. PEROXIDACION EN PLASMA

La técnica utilizada fue una modificación de la descrita por Yagi según los siguientes pasos:

1-Se inicia el proceso tras la descongelación de las muestras a temperatura

ambiente.

2-Se centrifugan a 2000 rpm durante 10 min a 4°C.

3-Se preparan tubos de vidrio con 4 ml de H₂SO₄ N/12.

4-Se añade 20 µl de plasma.

5-Se agita la mezcla durante unos segundos.

6-Se adiciona 0.5 ml de ácido fosfotúngstico al 10%.

7-Se vuelve a agitar y se espera 5 min a temperatura ambiente.

8-Se centrifuga a 4000 rpm durante 10 min a 20°C.

9-Se elimina el sobrenadante por inversión rápida.

10-Se añade 2 ml de H₂SO₄ N/12.

11-Se añade 0.3 ml de ácido fosfotúngstico al 10%.

12-Se agita nuevamente durante unos segundos y se centrifuga a 4000 rpm durante 10 min a 20°C.

13-Se elimina el sobrenadante mediante inversión rápida.

14-Se añade 4 ml de H₂O destilada.

15-Se añade 1 ml de reactivo TBA (ácido Tiobarbitúrico).

16-A tres muestras, escogidas al azar, se les añaden una solución estándar conocida (10 µl, 25 µl y 50 µl). Ello nos servirá para poder promediar las rectas de calibrado por adición.

17-Se calienta en un baño a 100°C durante 60 min.

18-Se enfrían los tubos en agua corriente.

19-Se añade 5 ml de n-butanol a 4°C.

20-Se realiza 100 inversiones suaves con mixer rotatorio (Heidolph), observándose la separación en dos fases: la orgánica y la acuosa.

21-Una vez separada la fase orgánica se centrifuga a 4000 rpm durante 15 min a 20°C.

22-Seguidamente y en un intervalo breve, se realiza la lectura del sobrenadante mediante un espectrofluorímetro (Perkin Elmer LM 50), a una onda de excitación 525 y a una onda de emisión de 558.

Todas las muestras fueron realizadas por duplicado y con un máximo de veinte muestras en cada medición.

3.4.4.2 PEROXIDACION EN LDL

1-Previa descongelación de las muestras, a temperatura ambiente, se procede a la centrifugación a 2000 rpm durante 10 min. a 4°C.

2-A cada tubo de vidrio se le añade 3.5 ml de H₂O destilada y 0.5 ml de ácido fosfotúngstico al 10%. Se incorpora 50 µl de muestra de LDL.

3-Una vez preparado el reactivo TBA se añade 1 ml.

4-Se agita durante unos segundos.

5-A tres muestras escogidas al azar se les añaden cantidades crecientes de una solución estándar (10 µl, 25 µl y 50 µl). Ello nos servirá para poder promediar las rectas de calibrado por adición.

MÉTODOS

6-Se calienta a 100°C durante 60 min.

7-Se enfrían los tubos con agua corriente durante unos minutos.

8-Se añade 5 ml de n-butanol a 4°C.

9-Se realizan 100 inversiones suaves con un mixer rotatorio (Heidolph), observándose, la separación de dos fases: una orgánica y una acuosa.

10-Una obtenida la fase orgánica, se procede a su centrifugación a 4000 rpm durante 15 min a 20°C.

11-Seguidamente y en un intervalo lo más breve posible, se realiza la lectura del sobrenadante mediante un espectrofluorímetro (Perkin Elmer LM 50), a una onda de excitación 525 y a una onda de emisión de 558.

Todas las muestras fueron realizadas por duplicado y con un máximo de veinte muestras en cada medición.

Reactivo TBA (Tiobarbitúrico)

solución acuosa TBA al 0.67 %.
ácido acético glacial 1:1, v:v.

Solución estándar

1,1,3,3-tetraetoxipropano ($4.05 \cdot 10^{-5}$ M).

3.5. ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS

Se utilizó el programa D-Base IV para el almacenamiento de los resultados obtenidos. Posteriormente, estos datos fueron procesados utilizando el programa de estadística SPSS.

Para comparar las medias observadas entre los diferentes grupos, se utilizó la t de Student, cuando el número de individuos de cada grupo era superior a los veinticinco.

Para comparar las medias observadas en los diferentes grupos con menos de veinticinco individuos, se utilizó la U de Mann-Whitney.

Se aplicó el test de Wilcoxon y el t test para muestras pareadas obtenidas en observaciones, para comparar los resultados de las variables repetitivas.

Se calculó el valor de r de la regresión lineal, para valorar la existencia o no de correlación entre los valores de oxidación y el resto de variables.

Para todos los análisis efectuados, se estableció como grado de significación estadística $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DEL GRUPO DE PACIENTES

4.1.1. DATOS ANTROPOMÉTRICOS

La tabla 5 muestra la media y desviación estándar de la edad y los valores antropométricos de veinticinco pacientes hipercolesterolémicos (10 ♂ y 15 ♀) y del grupo control formado por treinta y cinco individuos sanos (19 ♂ y 16 ♀). Comparando ambos grupos no se observaron diferencias significativas.

En la tabla 6 se muestra la media y desviación estándar de la edad y de los valores antropométricos de veinte pacientes diabéticos (11 ♂ y 9 ♀) y del grupo control formado por treinta y cinco individuos sanos (19 ♂ y 16 ♀). Al comparar ambos grupos, se observó que el peso de los pacientes de sexo masculino era mayor que en el grupo control, existiendo diferencia significativa ($p < 0.05$).

La tabla 7 muestra la media y desviación estándar de la edad y de los valores antropométricos de veinte pacientes de sexo femenino afectadas de obesidad mórbida en el período basal y tras un período de dieta y del grupo control formado por dieciséis mujeres. Se observaron diferencias significativas ($p < 0.01$) al comparar el grupo de pacientes con obesidad mórbida en el período basal y post-dieta en relación al peso y al IQ. Sí se observó diferencias

significativas ($p < 0.01$) al comparar la edad, el peso y el índice de quetelet, entre el grupo control y las pacientes en ambos períodos.

La tabla 8 muestra la media y desviación estándar de la edad y los valores antropométricos del total de noventa y tres individuos, utilizados como grupo control, distribuidos en función de la edad. Grupo de cero a treinta años formado por veintisiete jóvenes de sexo masculino, el grupo de treinta y uno a sesenta y cuatro años formado por treinta y cinco individuos de ambos sexos y el grupo de más de sesenta y cinco años formado por un total de treinta y un sujetos de ambos sexos. Solamente fueron comparados los dos últimos grupos, observándose diferencia significativa ($p < 0.01$) entre la edad, el peso y la talla. El grupo de jóvenes no fue comparado al estar formado únicamente por hombres.

La tabla 9 muestra la media y desviación estándar de la edad y los valores antropométricos del grupo control formado por cincuenta y ocho individuos de sexo masculino distribuidos por intervalos de edad. Se observó mayor edad e índice de quetelet, con una diferencia significativa ($p < 0.01$) al comparar el grupo de edad intermedia, con el grupo de jóvenes. Sin embargo, la talla fue mayor en los jóvenes con una diferencia significativa ($p < 0.01$). Los jóvenes tenían un peso y una talla mayor que los ancianos con diferencia significativa ($p < 0.01$), en cambio, el índice de quetelet no mostró diferencias. El grupo de edad intermedia tenían un peso y un índice de quetelet con diferencias significativa ($p < 0.01$) con

respecto a los ancianos, asimismo, eran más altos ($p < 0.05$).

La tabla 10 muestra la media y desviación estándar del grupo control formado por treinta y cinco mujeres y distribuidas por edad. El grupo de edad intermedia tenían un mayor peso y un menor índice de quetelet, aunque sin diferencias significativas, sin embargo, eran más altas, con diferencias significativa ($p < 0.01$)

La tabla 11 muestra la media y desviación estándar de grupo control de sexo masculino distribuidos según su hábito tabáquico. Se observó que el grupo de no fumadores era de mayor edad y con un índice de quetelet superior a los fumadores, con diferencias significativa ($p < 0.01$).

4.1.2. CONCENTRACION DE LIPOPROTEINAS

La tabla 12 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por treinta y cinco individuos y en un grupo de veinticinco pacientes hipercolesterolémicos, en el período basal, a las doce semanas y a las veinticuatro semanas de haber recibido tratamiento con probucol.

El grupo control presentó niveles inferiores de colesterol plasmático, triglicéridos, colesterol LDL y HDL con una diferencia significativa ($p < 0.01$) y colesterol VLDL ($p < 0.05$) al compararlo al grupo de pacientes en el período basal. Tras doce y veinticuatro semanas de tratamiento los niveles de colesterol total y colesterol LDL descendieron, pero persistía una diferencia significativa ($p < 0.01$). Los niveles de triglicéridos descendieron, pero a las veinticuatro semanas persistía una diferencia significativa ($p < 0.01$).

Los niveles de colesterol plasmáticos descendieron significativamente ($p < 0.01$) en un 15% y un 13% a las doce y veinticuatro semanas de tratamiento respectivamente. Los niveles de triglicéridos y el colesterol de las VLDL no mostraron descensos significativos. El colesterol de las LDL mostró un descenso significativo ($p < 0.01$) en un 14% y un 10%. El colesterol de las HDL mostró un descenso significativo ($p < 0.01$) de 24% en la semana doce y un descenso significativo ($p < 0.05$) de un 20% en la semana veinticuatro. El grupo control unos niveles de colesterol, colesterol de las LDL y colesterol de las HDL significativamente ($p < 0.01$) más bajos que los pacientes en el período basal. Los triglicéridos fueron más bajos con diferencia significativa ($p < 0.05$) y el colesterol de las VLDL no mostró diferencias significativas.

La tabla 13 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por diecinueve hombres y un grupo de diez pacientes hipercolesterolémicos de sexo masculino,

en el período basal, a las doce semanas y a las veinticuatro semanas de haber recibido tratamiento con probucol.

En el grupo control, los niveles lipídicos fueron inferiores en relación al grupo de pacientes hipercolesterolémicos. Solamente, se observó diferencia significativa ($p < 0.01$) en los niveles de colesterol total y colesterol LDL. Esta diferencia se mantuvo tras las veinticuatro semanas de tratamiento.

Los niveles de colesterol plasmático descendieron con una diferencia significativa ($p < 0.01$) en un 12% y un 9% a las doce y veinticuatro semanas de tratamiento respectivamente. Los niveles de triglicéridos descendieron un 11% y un 17% presentando diferencia significativa sólo a las veinticuatro semanas. El colesterol de las VLDL descendió un 14% y un 13,5% a las doce y veinticuatro semanas respectivamente con diferencia significativa ($p < 0.05$). El colesterol LDL descendió un 13% con una diferencia significativa ($p < 0.01$) a las doce semanas y un descenso del 6% con una diferencia significativa ($p < 0.05$). Los niveles de colesterol HDL descendieron un 24% a las doce semanas con una diferencia significativa ($p < 0.01$) y 13,5% a las veinticuatro semanas con una $p < 0.05$). Al comparar el grupo control con los pacientes, se observó que los niveles de colesterol plasmáticos, colesterol VLDL y colesterol LDL eran inferiores, con diferencia significativa ($p < 0.01$). El resto de parámetros no presentó diferencias significativas.

La tabla 14 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por dieciséis mujeres y un grupo de quince pacientes hipercolesterolémicas de sexo femenino, en el período basal, a las doce semanas y a las veinticuatro semanas de haber recibido tratamiento con probucol.

En el grupo control, los niveles de colesterol total, triglicéridos, colesterol VLDL, colesterol LDL y HDL fueron inferiores al grupo de pacientes. Sin embargo, sólo se observó diferencias significativas a nivel del colesterol total y colesterol LDL ($p < 0.01$). Estas diferencias se mantuvieron tras las veinticuatro semanas de tratamiento.

Los niveles de colesterol plasmáticos descendieron un 17 % y un 16 % en la semana doce y veinticuatro respectivamente con diferencia significativa ($p < 0.01$). En los niveles de triglicéridos y de colesterol VLDL no se apreciaron diferencias significativas. El colesterol LDL descendió un 14% y un 13% respectivamente, a las doce y veinticuatro semanas, con diferencia significativa ($p < 0.05$). El colesterol HDL descendió un 30% y un 29% respectivamente a las doce y veinticuatro semanas, con diferencia significativa ($p < 0.01$). En el grupo control los valores de colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL fueron significativamente menor ($p < 0.01$) que en el período basal de las pacientes. Los niveles de triglicéridos también fueron menores aunque con una diferencia $p < 0.05$. El colesterol VLDL no presentó diferencia significativa.

La tabla 15 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por treinta y cinco individuos y un grupo formado por veinte pacientes diabéticos.

Solamente se observan diferencias significativas ($p < 0.001$), en los niveles de colesterol de las VLDL, siendo mayor en el grupo control.

La tabla 16 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por diecinueve individuos varones y un grupo formado por nueve pacientes diabéticos de sexo masculino.

Se observa que el colesterol VLDL es mayor en el grupo control, que en el grupo de pacientes, con una diferencia significativa ($p < 0.05$).

La tabla 17 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por dieciséis mujeres y un grupo formado por once pacientes diabéticas.

Se observa que el colesterol VLDL es mayor en el grupo control, que en el grupo de pacientes, con una diferencia significativa ($p < 0.05$).

La tabla 18 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por dieciséis mujeres y un grupo formado por veinte pacientes con obesidad mórbida.

Al comparar el grupo de pacientes, en el período basal, con el período de post-dieta se observa un descenso significativo ($p < 0.01$) en los niveles de colesterol, colesterol LDL y colesterol HDL. Los niveles de triglicéridos también disminuyeron aunque con una diferencia significativa ($p < 0.05$). En el colesterol VLDL no se apreció cambios significativos.

La tabla 19 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por noventa y tres individuos distribuidos según su edad.

El grupo de ancianos presenta niveles de colesterol plasmáticos y de colesterol VLDL mayores que el grupo de edad intermedia con una diferencia significativa ($p < 0.01$). Los niveles de triglicéridos, colesterol LDL y HDL no mostraron diferencias significativas. El grupo de jóvenes no fue comparado por estar compuesto por varones exclusivamente.

La tabla 20 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por cincuenta y ocho individuos de sexo masculino distribuidos según su edad.

Los individuos jóvenes presentan niveles, significativamente, más bajos ($p < 0.01$) de colesterol plasmáticos, triglicéridos, colesterol VLDL y LDL al compararlos con el grupo de edad intermedia. El colesterol HDL fue más alto aunque sin diferencia significativa. Los jóvenes también presentaron niveles más

bajos de colesterol plasmático, colesterol VLDL y LDL con una $p < 0.01$. Los triglicéridos y el colesterol HDL fueron menores aunque con una $p < 0.05$. El grupo de ancianos presentó niveles más elevados de colesterol VLDL, con una diferencia significativa ($p < 0.01$), al compararlo con el grupo de edad intermedia.

Los niveles de triglicéridos fueron menores con una $p < 0.05$ y el colesterol HDL mayor con una $p < 0.05$. No se apreciaron diferencias entre los niveles de colesterol plasmático y colesterol LDL.

La tabla 21 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por treinta y cinco mujeres distribuidas según su edad.

En el grupo de ancianas todos los parámetros lipídicos fueron más elevados, aunque sólo el colesterol y triglicéridos plasmáticos y el colesterol VLDL, presentaron diferencias significativas.

La tabla 22 muestra los valores plasmáticos de colesterol y triglicéridos y su fraccionamiento lipoproteico en el grupo control formado por cincuenta y ocho hombres distribuidos según su hábito tabáquico.

Sólo presentó diferencias significativas el colesterol VLDL que fue superior en el grupo de no fumadores con una $p < 0.05$.

4.1.3. VALORES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LDL

La tabla 23 y la gráfica 1 y 2 muestra los niveles de oxidación en plasma y en la fracción LDL de veinticinco pacientes hipercolesterolémicos, en el período basal, a las doce y veinticuatro semanas de tratamiento con probucol. También se observan los valores de oxidación de los treinta y cinco individuos del grupo control.

Los valores de las sustancias que reaccionan con TBA fueron significativamente menores ($p < 0.01$) en el grupo control que en los pacientes en el período basal. A las doce y veinticuatro semanas de tratamiento, se observó un descenso de las sustancias que reaccionaban con el TBA en plasma, no observando diferencia significativa con el grupo control. En cambio, en la fracción LDL, tras las doce semanas de tratamiento se observó una diferencia significativa ($p < 0.01$).

A las doce y veinticuatro semanas de tratamiento, se observó un descenso de las sustancias que reaccionaban con el TBA en el plasma del 26% y 40% respectivamente, con una diferencia significativa ($p < 0.001$) en relación al período basal. El mismo efecto fue observado en las LDL con un descenso del 27% y 44% respectivamente, con una diferencia significativa ($p < 0.001$).

La tabla 24 muestra los niveles de oxidación en plasma y en la fracción LDL de veinticinco pacientes hipercolesterolémicos distribuidos por

RESULTADOS

sexo, en el período basal, a las doce y veinticuatro semanas de tratamiento con probucol. También se observan los valores de oxidación de treinta y cinco individuos, del grupo control, distribuidos por sexo.

Los valores de las sustancias que reaccionan con TBA obtenidos en plasma y LDL fueron menores en el grupo control masculino que en el período basal de los pacientes con una $p < 0.05$. No se observaron diferencias significativas con el grupo control, tras las doce y veinticuatro semanas de tratamiento.

En los pacientes varones se observó un descenso en plasma del 25% y 42%, respectivamente, con una $p < 0.01$. En las LDL el descenso fue del 21% a las doce semanas con una diferencia $p < 0.05$ y en un 31% a las veinticuatro semanas con una diferencia significativa $p < 0.01$.

En el grupo control femenino los valores fueron un 43% inferiores en plasma y un 38% en LDL respecto al grupo de pacientes con una $p < 0.01$ en el período basal. A las doce y veinticuatro semanas de tratamiento no se observaron diferencias significativas.

En plasma tras las doce y veinticuatro semanas de tratamiento se objetivó un descenso del 25% y 47%, respectivamente, con una diferencia significativa $p < 0.01$. A nivel de las LDL el descenso observado fue del 22% y 39%, respectivamente, con una diferencia significativa $p < 0.01$.

La tabla 25 y la gráfica 3 muestran los valores de oxidación en plasma y

en la fracción LDL en un grupo de veinte pacientes diabéticos (9 ♂ y 11 ♀), y el grupo control formado por treinta y cinco individuos (19 ♂ y 16 ♀).

Los valores observados en el grupo control en plasma y en la fracción LDL fueron menores, al compararlos con los pacientes, con una diferencia significativa $p < 0.01$ y $p < 0.05$ respectivamente. No se apreciaron diferencias entre los hombres del grupo control y los pacientes masculinos. En cambio, al comparar las mujeres de ambos grupo se observó una menor cantidad de sustancias que reaccionaban con TBA en plasma con una diferencia $p < 0.01$ y también en LDL, aunque con una $p < 0.05$, gráfica 4.

La tabla 26 y la gráfica 5 muestran los valores de oxidación en plasma en un grupo de veinte pacientes de sexo femenino con obesidad mórbida y el grupo control formado por dieciséis mujeres.

En el grupo control los valores de las sustancias que reaccionaron con TBA fueron, significativamente, más bajos en el grupo control con una $p < 0.01$.

El descenso observado tras veintiún días de dieta altamente hipocalórica fue del 12% con una diferencia significativa $p < 0.01$.

La tabla 27 y la gráfica 6 muestran los valores de oxidación en plasma y en la fracción LDL, en el grupo control con edad superior a los treinta años de ambos sexos. Vemos que en el grupo de edad intermedia los valores de oxidación son inferiores al grupo de ancianos tanto en plasma como en LDL, en un 37% y

un 29%, respectivamente.

La tabla 28 y la gráfica 7 muestran los valores de oxidación en plasma y en la fracción LDL del grupo control de sexo masculino distribuidos por edades.

Los valores de oxidación en plasma en el grupo de ancianos es superior al grupo de jóvenes en un 25% y en un 35%, respecto al grupo de edad intermedia, con diferencia significativa $p < 0.01$. A nivel de las LDL se observa, en el grupo de jóvenes, valores superiores al grupo de edad intermedia en un 46% y en un 22% en el grupo de ancianos con una $p < 0.01$ para ambos grupos. En el grupo de ancianos los valores de oxidación son superiores al compararlo con el grupo de edad intermedia, en un 30%, con una $p < 0.01$.

La tabla 29 y la figura 8 muestran los valores de oxidación en plasma y en la fracción LDL, del grupo control, de sexo femenino, distribuidos por edades.

Se aprecia, en el grupo de ancianas, niveles de oxidación en plasma y LDL mayores que en el grupo de edad intermedia, de un 40% y un 28% respectivamente, con una diferencia significativa de $p < 0.01$.

La tabla 30 y la figura 9 muestran los valores de oxidación en plasma y en la fracción LDL, del grupo control, de sexo masculino, distribuidos según su hábito tabáquico.

Destacan niveles elevados de oxidación, a nivel de las LDL en el grupo

de fumadores al compararlos a los no fumadores, de un 32%, con una $p < 0.01$.

Los niveles de oxidación plasmáticos fueron más elevados en el grupo de fumadores aunque sin mostrar diferencias significativas.

4.1.4. CORRELACIONES ENTRE COLESTEROL PLASMÁTICO Y COLESTEROL LDL CON NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL

La tabla 31 muestra las correlaciones entre colesterol plasmático y oxidación en el plasma, y la correlación entre colesterol LDL y oxidación en la fracción LDL, en el grupo los diferentes grupos que han sido estudiados: hipercolesterolémicos, diabéticos, obesas, y finalmente el grupo control distribuidos según su hábito tabáquico. Solamente, se observa una importante correlación positiva entre el colesterol plasmático y la oxidación plasmática en el grupo control de varones fumadores.

No se observó correlación lineal significativa entre la oxidación en plasma y la oxidación en la fracción LDL con la HbA_{1c} de los pacientes diabéticos.

La tabla 32 muestra la correlación entre la edad, la oxidación en el plasma y la oxidación en la fracción LDL de los individuos del grupo control. En ella se observa una importante correlación positiva entre la edad y la oxidación en plasma en el total del grupo y en las mujeres. En los hombres esta correlación se hizo

RESULTADOS

significativa al excluir a los individuos de menos de 30 años. Al analizar la correlación entre la edad y la oxidación en la fracción LDL, esta siguió siendo positiva de forma significativa en el grupo de mujeres, en los hombres esta positividad se mantuvo altamente significativa al excluir al grupo de menos de 30 años. Sin embargo, al considerar este grupo en el análisis la correlación se invierte.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA DE LA UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

**PEROXIDACIÓN LIPÍDICA Y
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR**

TESIS DOCTORAL
NURÍA PLANA I GIL

TABLA 5

EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS BASALES EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS (10 ♂ Y 15 ♀) Y EL GRUPO CONTROL (19 ♂ Y 16 ♀).

		TOTAL	HOMBRES	MUJERES	
EDAD	Nº	Nº	Nº	Nº	
PACIENTES (25)	52.28±12.06	(10)	46.60±12.66	(15)	56.07±10.38
CONTROLES (35)	52.69±8.49	(19)	52.47±8.50	(16)	52.81±8.80
PESO					
PACIENTES (25)	67.35±10.83	(10)	72.79±11.88	(15)	63.47±8.81
CONTROLES (35)	70.76±8.34	(19)	75.11±5.83	(16)	65.60±7.79
TALLA					
PACIENTES (25)	159.33±9.34	(10)	155.36±9.13	(15)	155.03±6.97
CONTROLES (35)	162.94±8.25	(19)	167.66±5.56	(16)	157.34±7.21
IQ					
PACIENTES (25)	26.60±3.39	(10)	26.58±2.98	(15)	26.61±3.77
CONTROLES (35)	26.64±2.60	(19)	26.84±1.72	(16)	26.41±3.30

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

RESULTADOS

TABLA 6

EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS BASALES EN PACIENTES DIABETICOS (11 ♂ Y 9 ♀) Y EL GRUPO CONTROL (19 ♂ Y 16 ♀).

		TOTAL	HOMBRES	MUJERES	
EDAD	Nº	Nº	Nº	Nº	
PACIENTES (20)	55.42±5.79	(11)	52.78±5.73	(9)	57.80±4.71
CONTROLES (35)	52.69±8.49	(19)	52.47±8.50	(16)	52.81±8.80
PESO					
PACIENTES (20)	71.34±5.79	(11)	81.50±8.18*	(9)	62.37±11.86
CONTROLES (35)	70.76±8.34	(19)	75.11±5.83	(16)	65.60±7.79
TALLA					
PACIENTES (20)	160.86±10.4	(11)	169.98±4.29	(9)	152.63±6.82
CONTROLES (35)	162.94±8.25	(19)	167.66±5.56	(16)	157.34±7.21
IQ					
PACIENTES (20)	27.61±3.18	(11)	28.38±2.44	(9)	26.92±3.59
CONTROLES (35)	26.64±2.60	(19)	26.84±1.72	(16)	26.41±3.30

IQ: índice de quetelet(Kg/m²).

* p < 0.05 comparando grupo de pacientes de sexo masculino con grupo control de sexo masculino.

TABLA 7

EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS BASALES Y DESPUES DE TRES SEMANAS DE DIETA HIPOCALORICA EN PACIENTES OBESAS (20 ♀) Y EL GRUPO CONTROL (16 ♀).

	CONTROL (n=16)	BASAL (n=20)	POST-DIETA (n=20)
EDAD	52.81±8.80	36.25±11.62**	36.25±11.62
PESO	65.60±7.79	108.31±19.58**	102.05±19.42**
TALLA	157.34±7.21	159.09±6.76	159.09±6.76
IQ	26.41±3.30	42.56±7.83**	40.24±7.64**

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

** p<0.01 comparando grupo control con pacientes obesas en el período basal.

++ p<0.01 comparando pacientes obesas en el período basal con período post-dieta.

TABLA 8

**EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS DE LOS INDIVIDUOS SANOS
DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD (n=93).**

	0 - 30 AÑOS (n=27)	31 - 64 AÑOS (n=35)	> 65 AÑOS (n=31)
EDAD	19.43 ± 2.90	52.69 ± 8.49	79.61 ± 8.29**
PESO	72.10 ± 11.41	70.76 ± 8.34	62.15 ± 11.18**
TALLA	174.04 ± 7.60	162.94 ± 8.25	155.41 ± 9.41**
IQ	23.86 ± 3.53	26.64 ± 2.60	25.84 ± 3.91

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

** p<0.01 comparando grupo de 31-64 años con grupo > 65 años.

TABLA 9

**EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS DE LOS INDIVIDUOS SANOS
DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD, HOMBRES.**

	0 - 30 AÑOS (n=27)	31 - 64 AÑOS (n=19)	> 65 AÑOS (n=12)
EDAD	19.07 ± 2.25	52.47 ± 8.50**	84.42 ± 7.54 ^{§§} ++
PESO	72.80 ± 10.98	75.11 ± 5.83	63.81 ± 10.45 ^{§§} +
TALLA	174.22 ± 7.68	167.66 ± 5.56**	163.00 ± 7.71 [§] ++
IQ	24.05 ± 3.43	26.84 ± 1.72**	23.95 ± 2.88 ^{§§}

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

** p<0.01 comparando grupo de 0-30 años con grupo de 31-64 años.

++ p<0.01 comparando grupo de 0-30 años con grupo > 65 años.

+ p<0.05 comparando grupo de 0-30 años con grupo > 65 años.

§§ p<0.01 comparando grupo de 31-64 años con grupo > 65 años.

§ P<0.05 comparando grupo de 31-64 años con grupo > 65 años.

TABLA 10

**EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS DE LOS INDIVIDUOS SANOS
DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD, MUJERES.**

	31 - 64 AÑOS (n=16)	> 65 AÑOS (n=19)
EDAD	52.81 ± 8.80	74.68 ± 8.23**
PESO	65.60 ± 7.79	61.50 ± 11.23
TALLA	157.34 ± 7.21	150.85 ± 6.63**
IQ	26.41 ± 3.30	27.13 ± 3.96

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

** p < 0.01 comparando grupo de 31-64 años con grupo > 65 años.

TABLA 11

**EDAD Y VALORES ANTROPOMETRICOS DE LOS INDIVIDUOS
VARONES SANOS DISTRIBUIDOS SEGUN SU HABITO TABAQUICO.**

	NO FUMADORES (n=25)	FUMADORES (n=33)
EDAD	50.27 ± 23.83	34.64 ± 27.49*
PESO	72.46 ± 9.20	70.68 ± 11.54
TALLA	168.56 ± 6.99	171.32 ± 9.67
IQ	25.55 ± 2.93	24.15 ± 3.22*

IQ:índice de quetelet(Kg/m²).

* p<0.05 comparando grupo de no fumadores con fumadores.

TABLA 12

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS Y EL GRUPO CONTROL.

	CONTROL (n=35)	BASAL (n=25)	SEMANA (12) (n=25)	SEMANA (24) (n=25)
C-PL	5.14±0.99	7.80±1.34**	6.64±0.77 ^{○○++}	6.85±0.93 ^{●●§§}
TG-PL	1.15±0.32	1.60±0.90*	1.42±0.70	1.42±0.60 [●]
C-VLDL	0.68±0.40	0.73±0.83	0.65±0.07	0.64±0.05
C-LDL	3.05±0.85	5.56±1.18**	4.79±0.73 ^{○○++}	5.03±0.87 ^{●●§§}
C-HDL	1.15±0.29	1.53±0.40**	1.09±0.25 ⁺⁺	1.16±0.32 ^{§§ α}

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p<0.01 comparando grupo control con pacientes en período basal.

* p<0.05 comparando grupo control con pacientes en período basal.

○○ p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 12 semanas de tratamiento.

●● p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 24 semanas de tratamiento.

++ p<0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 12.

§§ p<0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 24.

α p<0.05 comparando grupo de pacientes en semana 12 con pacientes en semana 24.

TABLA 13

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS Y EL GRUPO CONTROL. HOMBRES.

	CONTROL (n=19)	BASAL (n=10)	SEMANA(12) (n=10)	SEMANA(24) (n=10)
C-PL	5.19±0.85	7.14±0.54**	2.01±0.90	1.80±0.831.66
C-VLDL	0.69±0.46	0.88±0.42	0.74±0.42 ⁺	0.76±0.30 [§]
C-LDL	3.10±0.73	5.03±0.55**	4.37±0.53 ^{○○++}	4.72±0.74 ^{●●§}
C-HDL	1.09±0.33	1.18±0.31	0.90±0.20 ⁺⁺	1.02±0.34 ^{§ ∞}

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p<0.01 comparando grupo control con grupo pacientes en período basal.

○○ p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 12 semanas de tratamiento.

●● p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 24 semanas de tratamiento.

++ p<0.01 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 12.

§§ p<0.01 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 24.

§ p<0.05 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 24.

∞ p<0.05 comparando grupo pacientes semana 12 con pacientes en semana 24.

TABLA 14

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICAS Y EL GRUPO CONTROL. MUJERES.

	CONTROL (n=16)	BASAL (n=15)	SEMANA (12) (n=15)	SEMANA (24) (n=15)
C-PL	5.08±1.17	8.24±1.54**	6.85±0.86 ^{○○++}	7.06±1.04 ^{●●§§α}
TG-PL	0.95±0.46	1.33±0.83*	1.20±0.51	1.26±0.50
C-VLDL	0.67±0.33	0.64±0.36	0.55±0.23	0.57±0.22
C-LDL	2.98±1.00	5.91±1.36**	5.06±0.73 ^{○○+}	5.24±0.92 ^{●●§}
C-HDL	1.22±0.28	1.77±0.26**	1.22±0.20 ⁺⁺	1.25±0.28 ^{§§}

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p<0.01 comparando grupo control con pacientes en período basal.

* p<0.05 comparando grupo control con pacientes en período basal.

○○ p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 12 semanas de tratamiento.

●● p<0.01 comparando grupo control con pacientes a las 24 semanas de tratamiento.

++ p<0.01 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 12.

+ p<0.05 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 12.

§§ p<0.01 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 24.

§ p<0.05 comparando grupo pacientes en período basal con pacientes en semana 24.

α p<0.05 comparando grupo pacientes en semana 12 con pacientes en semana 24.

TABLA 15

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES DIABETICOS Y EL GRUPO CONTROL.

	CONTROL (n=35)	DIABETICOS (n=20)
C-PL	5.14 ± 0.99	5.28 ± 0.82
TG-PL	1.15 ± 0.52	1.62 ± 2.03
C-VLDL	0.68 ± 0.40	0.49 ± 0.64**
C-LDL	3.05 ± 0.84	3.34 ± 0.82
C-HDL	1.14 ± 0.29	1.06 ± 0.22

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p < 0.01 comparando grupo control con pacientes diabéticos.

TABLA 16

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES DIABETICOS Y EL GRUPO CONTROL. HOMBRES.

	CONTROL (n=19)	DIABETICOS (n=9)
C-PL	5.19 ± 0.85	5.22 ± 0.79
TG-PL	1.31 ± 0.52	2.08 ± 2.91
C-VLDL	0.69 ± 0.46	0.59 ± 0.89*
C-LDL	3.10 ± 0.73	3.33 ± 0.93
C-HDL	1.09 ± 0.30	0.95 ± 0.18

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

* p < 0.05 comparando grupo control con grupo de pacientes diabéticos de sexo masculino.

TABLA 17

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES DIABETICAS Y EL GRUPO CONTROL. MUJERES.

	CONTROL (n=16)	DIABETICOS (n=11)
C-PL	5.08 ± 1.17	5.34 ± 0.88
TG-PL	0.95 ± 0.46	1.21 ± 0.57
C-VLDL	0.67 ± 0.33	0.39 ± 0.30*
C-LDL	2.98 ± 1.00	3.35 ± 0.77
C-HDL	1.22 ± 0.28	1.16 ± 0.21

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

* $p < 0.05$ comparando grupo control con grupo de pacientes diabéticos de sexo femenino.

TABLA 18

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN PACIENTES OBESAS PRE Y POST DIETA Y EL GRUPO CONTROL.

	CONTROL (n=16)	PRE-DIETA (n=20)	POST-DIETA (n=20)
C-PL	5.08 ± 1.17	4.83 ± 0.82	3.60 ± 0.68 ⁺⁺
TG-PL	0.95 ± 0.46	1.52 ± 0.99 ^{**}	1.11 ± 0.31 ⁺
C-VLDL	0.67 ± 0.33	0.28 ± 0.14 ^{**}	0.24 ± 0.31
C-LDL	2.98 ± 1.00	2.87 ± 0.57	2.06 ± 0.58 ⁺⁺
C-HDL	1.22 ± 0.28	1.13 ± 0.33	0.88 ± 0.19 ⁺⁺

C-PL: colesterol plasma, TG-PL: triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p<0.01 comparando grupo control con pacientes obesas en período pre-dieta.

++ p<0.01 comparando grupo de pacientes pre-dieta a grupo de pacientes post-dieta.

+ p<0.05 comparando grupo de pacientes pre-dieta a grupo de pacientes post-dieta.

TABLA 19

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD.

	0 - 30 AÑOS (n=27)	31 - 64 AÑOS (n=35)	> 65 AÑOS (n=31)	TOTAL (n=93)
C-PL	4.21 ± 0.90	5.14 ± 0.99	5.76 ± 0.95**	5.07 ± 1.13
TG-PL	0.78 ± 0.25	1.15 ± 0.52	1.09 ± 0.41	1.02 ± 0.44
C-VLDL	0.22 ± 0.19	0.68 ± 0.40	1.16 ± 0.30**	0.70 ± 0.49
C-LDL	2.27 ± 0.80	3.05 ± 0.85	3.26 ± 0.76	2.89 ± 0.90
C-HDL	1.19 ± 0.32	1.15 ± 0.29	1.30 ± 0.43*	1.21 ± 0.35

C-PL: colesterol plasma, TG-PL:triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p < 0.01 comparando grupo de edad intermedia con grupo de ancianos.

* p < 0.05 comparando grupo de edad intermedia con grupo de ancianos.

TABLA 20

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD. HOMBRES.

	0 - 30 AÑOS (n=27)	31 - 64 AÑOS (n=19)	> 65 AÑOS (n=12)	TOTAL (n=58)
C-PL	4.16 ± 0.88	5.19 ± 0.85**	5.82 ± 1.13 ⁺⁺	4.84 ± 1.13
TG-PL	0.78 ± 0.26	1.31 ± 0.52**	0.92 ± 0.31 ^{+ §}	0.98 ± 0.44
C-VLDL	0.22 ± 0.19	0.69 ± 0.46**	1.11 ± 0.31 ^{++ §§}	0.56 ± 0.47
C-LDL	2.19 ± 0.70	3.10 ± 0.73**	3.35 ± 0.85 ⁺⁺	2.73 ± 0.89
C-HDL	1.20 ± 0.32	1.09 ± 0.30	1.35 ± 0.33 ^{+ §}	1.20 ± 0.33

C-PL: colesterol plasma, TG-PL:triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p < 0.01 comparando grupo de varones jóvenes con grupo de varones de edad intermedia.

++ p < 0.01 comparando grupo de varones jóvenes con grupo de varones ancianos.

+ p < 0.05 comparando grupo de varones jóvenes con grupo de varones ancianos.

§§ p < 0.01 comparando grupo de varones de edad intermedia con grupo de varones ancianos.

§ p < 0.05 comparando grupo de varones de edad intermedia con grupo de varones ancianos.

TABLA 21

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD. MUJERES.

	31 - 64 AÑOS (n=16)	> 65 AÑOS (n=19)	TOTAL (n=35)
C-PL	5.08 ± 1.17	5.72 ± 0.85*	5.44 ± 1.02
TG-PL	0.95 ± 0.46	1.19 ± 0.44*	1.07 ± 0.46
C-VLDL	0.67 ± 0.33	1.18 ± 0.33**	0.94 ± 0.42
C-LDL	2.98 ± 0.82	3.21 ± 0.72	3.15 ± 0.86
C-HDL	1.28 ± 0.27	1.27 ± 0.48	1.24 ± 0.40

C-PL: colesterol plasma, TG-PL:triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

** p<0.01 comparado grupo control femenino de edad intermedia con grupo control de ancianas.

* p<0.05 comparado grupo control femenino de edad intermedia con grupo control de ancianas.

TABLA 22

CONCENTRACIONES DE COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS EN PLASMA Y FRACCIONES LIPOPROTEICAS EN EL GRUPO DE HOMBRES SANOS DISTRIBUIDOS SEGUN SU HABITO TABAQUICO (n=58).

	NO FUMADORES (n=33)	FUMADORES (n=25)
C-PL	5.03 ± 1.01	4.58 ± 1.25
TG-PL	1.08 ± 0.52	0.86 ± 0.26*
C-VLDL	0.64 ± 0.48	0.45 ± 0.43
C-LDL	2.87 ± 0.81	2.54 ± 0.98
C-HDL	1.18 ± 0.30	1.21 ± 0.37

C-PL: colesterol plasma, TG-PL:triglicéridos plasma, C-VLDL: colesterol de la lipoproteína de muy baja densidad, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, C-HDL: colesterol de la lipoproteína de alta densidad. Los valores lipídicos se expresan en mmol/L.

* p < 0.05 comparando controles sexo masculino no fumadores con fumadores.

TABLA 23

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS Y EN EL GRUPO CONTROL.

		PLASMA (nmol/ml)		LDL (nmol/ml)
	Nº		Nº	
CONTROL	(35)	5.14 ± 1.74	(35)	2.19 ± 0.70
HC BASAL	(25)	7.69 ± 2.19**	(25)	3.19 ± 1.07**
HC SEMANA 12	(25)	5.74 ± 1.67 ⁺⁺	(25)	2.57 ± 0.51 ^{○○++}
HC SEMANA 24	(25)	4.47 ± 1.41 ^{§§αα}	(25)	2.12 ± 0.53 ^{§§αα}

HC: pacientes hipercolesterolémicos. HC Basal: pacientes antes de iniciar el tratamiento. HC Semana 12: pacientes tras doce semanas de tratamiento. HC Semana 24: pacientes tras veinticuatro semanas de tratamiento.

** p < 0.01 comparando grupo control con grupo de pacientes en período basal.

○○ p < 0.01 comparando grupo control con pacientes a las 12 semanas de tratamiento.

++ p < 0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 12 de tratamiento.

§§ p < 0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 24 de tratamiento.

αα p < 0.01 comparando pacientes en semana 12 de tratamiento con pacientes en semana 24 de tratamiento.

TABLA 24

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS Y EN EL GRUPO CONTROL DISTRIBUIDOS POR SEXOS.

		PLASMA (nmol/ml)		LDL (nmol/ml)
	Nº	HOMBRES	Nº	
CONTROL	(19)	5.40 ± 1.71	(19)	2.19 ± 0.72
HC BASAL	(10)	7.49 ± 1.61*	(10)	2.92 ± 0.57*
HC SEMANA 12	(10)	5.54 ± 1.81 ⁺⁺	(10)	2.31 ± 0.66 ⁺
HC SEMANA 24	(10)	4.74 ± 1.00 ^{§§}	(10)	2.03 ± 0.61 ^{§§}
MUJERES				
CONTROL	(16)	4.48 ± 1.77	(16)	2.20 ± 0.71
HC BASAL	(15)	7.82 ± 2.57**	(15)	3.53 ± 1.25**
HC SEMANA 12	(15)	5.87 ± 1.63 ⁺⁺	(15)	2.75 ± 0.51 ⁺⁺
HC SEMANA 24	(15)	4.33 ± 1.60 ^{§§∞∞}	(15)	2.17 ± 0.49 ^{§§∞∞}

HC: pacientes hipercolesterolémicos. HC Basal: pacientes antes de iniciar el tratamiento. HC Semana 12: pacientes tras doce semanas de tratamiento. HC Semana 24: pacientes tras veinticuatro semanas de tratamiento.

** p<0.01 comparando grupo control con grupo de pacientes en período basal.

++ p<0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 12 de tratamiento.

§§ p<0.01 comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 24 de tratamiento.

∞ ∞ p<0.01 comparando pacientes en semana 12 de tratamiento con pacientes en semana 24 de tratamiento.

TABLA 25

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE PACIENTES DIABETICOS Y EN EL GRUPO CONTROL.

		PLASMA (nmol/ml)			LDL (nmol/ml)
TOTAL					
	Nº		Nº		
CONTROL	(35)	5.14 ± 1.74	(35)		2.19 ± 0.70
DIABETICOS	(20)	6.89 ± 1.53**	(20)		2.69 ± 0.64*
HOMBRES					
CONTROL	(19)	5.40 ± 1.71	(19)		2.19 ± 0.72
DIABETICOS	(9)	6.22 ± 1.02	(9)		2.51 ± 0.29
MUJERES					
CONTROL	(16)	4.48 ± 1.77	(16)		2.20 ± 0.71
DIABETICOS	(11)	7.50 ± 1.70 ⁺⁺	(11)		2.82 ± 0.80 ⁺

** p<0.01 comparando grupo control con grupo de pacientes.

* p<0.05 comparando grupo control con grupo de pacientes.

++ p<0.01 comparando grupo mujeres control con grupo de mujeres pacientes.

+ p<0.05 comparando grupo mujeres control con grupo de mujeres pacientes.

TABLA 26

**NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA EN EL GRUPO DE PACIENTES
OBESAS PRE Y POST DIETA Y EL GRUPO CONTROL.**

	CONTROL (n=16)	PRE-DIETA (n=20)	POST-DIETA (n=20)
PLASMA	4.48 ± 1.71	7.75 ± 1.46**	6.89 ± 2.14++

Los valores de oxidación se expresan en nmol/ml.

** p<0.01 comparando grupo control con grupo obesas en período pre-dieta.

+ p<0.01 comparando grupo obesas en período pre-dieta con período post-dieta.

TABLA 27

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD.

	30 - 64 AÑOS (n=35)	> 65 AÑOS (n=31)
PLASMA	5.14±1.74	8.09±1.30**
LDL	2.19±0.70	3.07±0.54**

Los valores de oxidación se expresan en nmol/ml.

** p<0.01 comparando el grupo control de edad intermedia con el grupo control de ancianos.

TABLA 28

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD. HOMBRES.

	< 30 AÑOS (n=27)	30-64 AÑOS (n=19)	> 65 AÑOS (n=12)	TOTAL (n=58)
PLASMA	6.24±1.60	5.40±1.71	8.34±1.39 ^{++ §§}	6.33±1.88
LDL	4.02±1.02	2.19±0.72 ^{**}	3.13±0.62 ^{++ §§}	3.31±1.18

Los valores de oxidación se expresan en nmol/ml.

^{**} p<0.01 comparando el grupo control varones jóvenes con el grupo control varones de edad intermedia.

⁺⁺ p<0.01 comparando el grupo control varones jóvenes con el grupo control varones ancianos.

^{§§} p<0.001 comparando el grupo control varones de edad intermedia con el grupo control varones ancianos.

TABLA 29

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR GRUPOS DE EDAD. MUJERES.

	30 - 64 AÑOS (n=16)	> 65 AÑOS (n=19)	TOTAL (n=35)
PLASMA	4.78 ± 1.77	7.94 ± 1.27**	6.47 ± 2.19
LDL	2.20 ± 0.71	3.03 ± 0.50**	2.67 ± 0.72

Los valores de oxidación se expresan en nmol/ml.

** p<0.01 comparando grupo de mujeres de edad intermedia con grupo de mujeres ancianas.

TABLA 30

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y LDL EN EL GRUPO DE HOMBRES SANOS DISTRIBUIDOS SEGUN SU HABITO TABAQUICO.

	NO FUMADORES (n=33)	FUMADORES (n=25)
PLASMA	6.03 ± 1.96	6.72 ± 1.73
LDL	2.74 ± 0.86	4.0 ± 1.15**

Los valores de oxidación se expresan en nmol/ml.

** p < 0.01 comparando grupo control varones no fumadores con fumadores.

TABLA 31

CORRELACION ENTRE COLESTEROL PLASMATICO Y OXIDACION PLASMATICA, COLESTEROL LDL Y OXIDACION EN FRACCION LDL EN LOS DIFERENTES GRUPOS. VALOR DE R.

	Nº	C-PL/OX-PL	C-LDL/OX-LDL
DISLIPEMICOS	(25)	0.3119	0.3612
DIABETICOS	(20)	0.0250	0.1030
OBESAS	(20)	0.2986	---
FUMADORES	(25)	0.6427**	-0.2067
NO FUMADORES	(33)	0.3334	0.4189

C-PL: colesterol plasma, OX-PL: oxidación en plasma, C-LDL: colesterol de la lipoproteína de baja densidad, OX-LDL: oxidación de la lipoproteína de baja densidad.

** p<0.001

* p<0.01

TABLA 32

CORRELACION ENTRE EDAD Y OXIDACION PLASMATICA Y ENTRE EDAD Y OXIDACION EN FRACCION LDL EN EL GRUPO DE INDIVIDUOS CONTROL. VALOR DE R.

	Nº	EDAD/OX-PL	Nº	EDAD/OX-LDL
TOTAL INDIVIDUOS	(158)	0.1943	(138)	-0.3131**
TOTAL CONTROLES	(93)	0.3455**	(93)	-0.3771
H ≥ 30 AÑOS	(31)	0.6674**	(31)	0.6145**
M. CONTROL	(35)	0.7101**	(35)	0.5645**
H. CONTROL	(58)	0.2976	(58)	-0.2523*

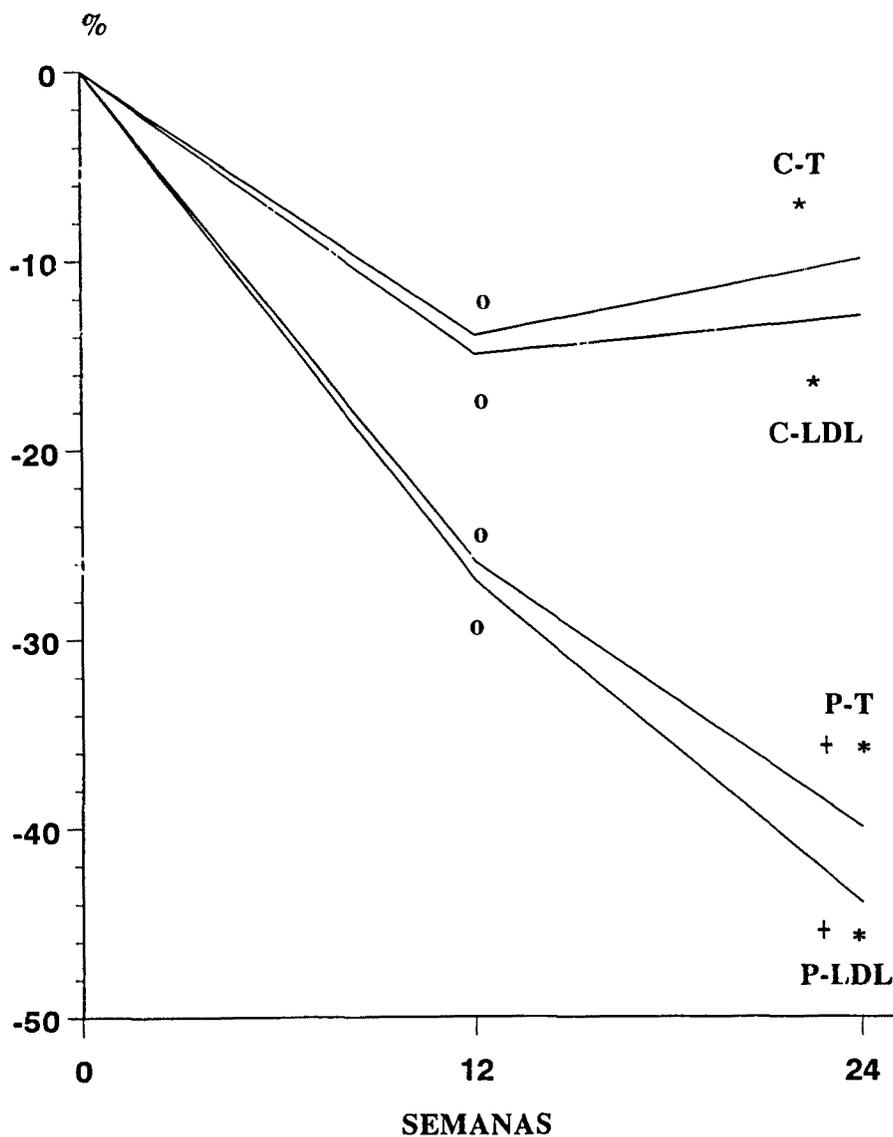
OX-PL: oxidación en plasma, OX-LDL: oxidación de la lipoproteína de baja densidad. H.Control: hombres del grupo control. M.Control:mujeres del grupo control. H≥30 años: hombres con edad superior o igual a los 30 años.

** p<0.001

* p<0.01

GRAFICA 1.

DESCENSO OBSERVADO EN LOS PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS
TRAS VEINTICUATRO SEMANAS DE TRATAMIENTO CON PROBUCOL.



C-T: Colesterol total. C-LDL: Colesterol LDL. P-T: Oxidación plasma. P-LDL: Oxidación en la fracción LDL.

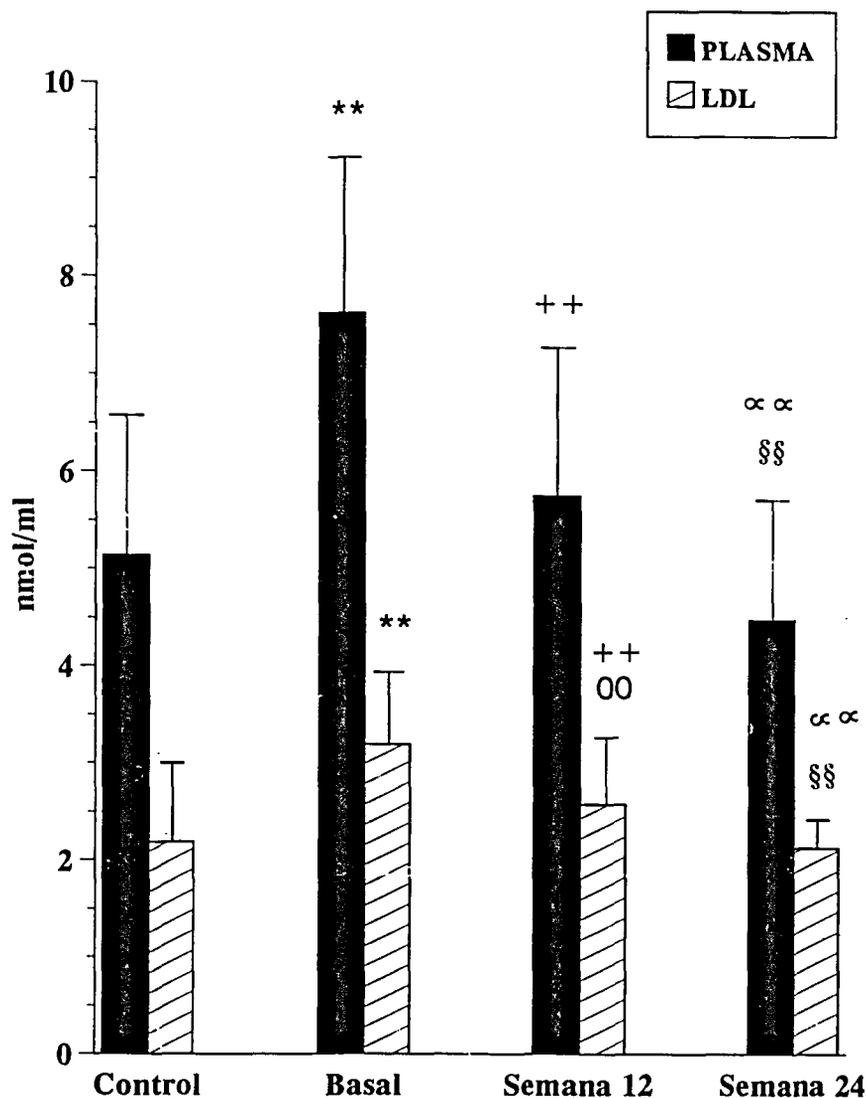
o Diferencia entre período basal y semana 12 $p < 0.01$.

* Diferencia entre período basal y semana 24 $p < 0.01$.

+ Diferencia entre semana 12 y semana 24 $p < 0.01$.

GRAFICA 2.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS



** $p < 0.01$ comparando grupo control con grupo de pacientes en período basal.

○○ $p < 0.01$ comparando grupo control con pacientes a las 12 semanas de tratamiento.

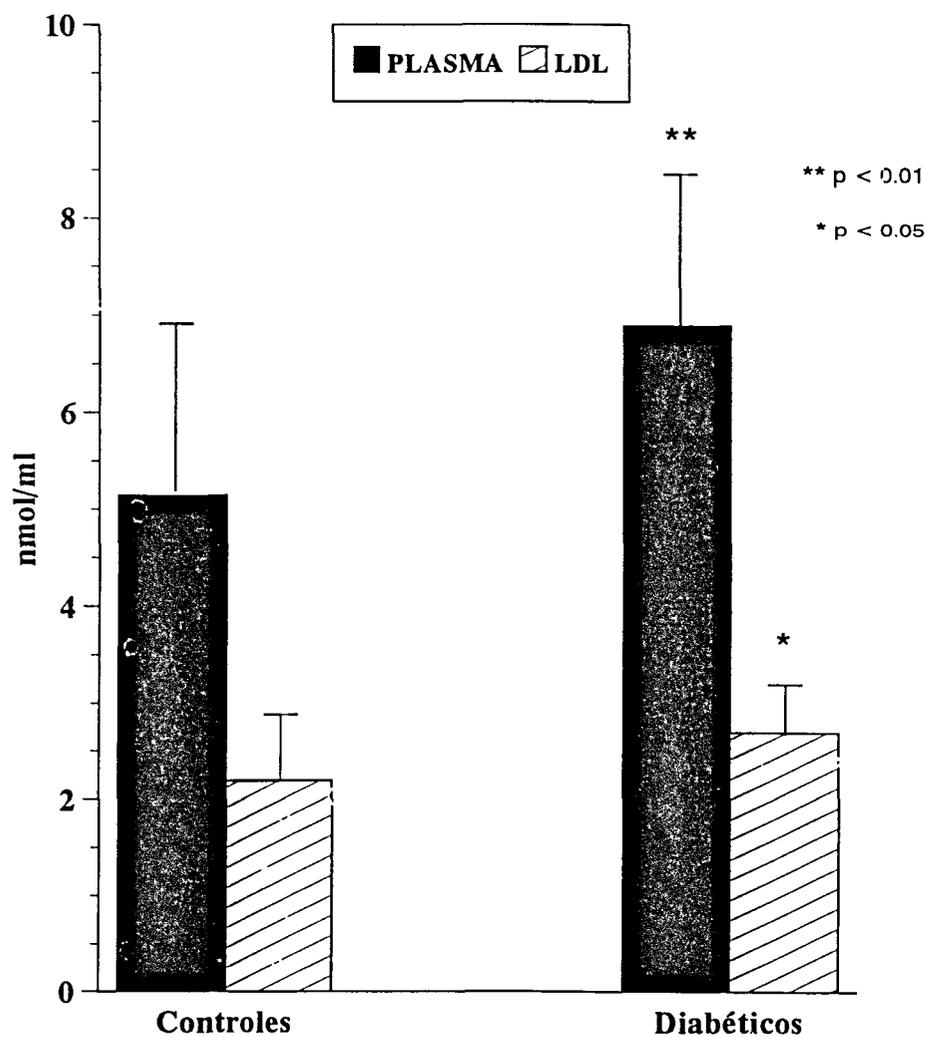
++ $p < 0.01$ comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 12 de tratamiento.

§§ $p < 0.01$ comparando grupo de pacientes en período basal con pacientes en semana 24 de tratamiento.

αα $p < 0.01$ comparando pacientes en semana 12 de tratamiento con pacientes en semana 24 de tratamiento.

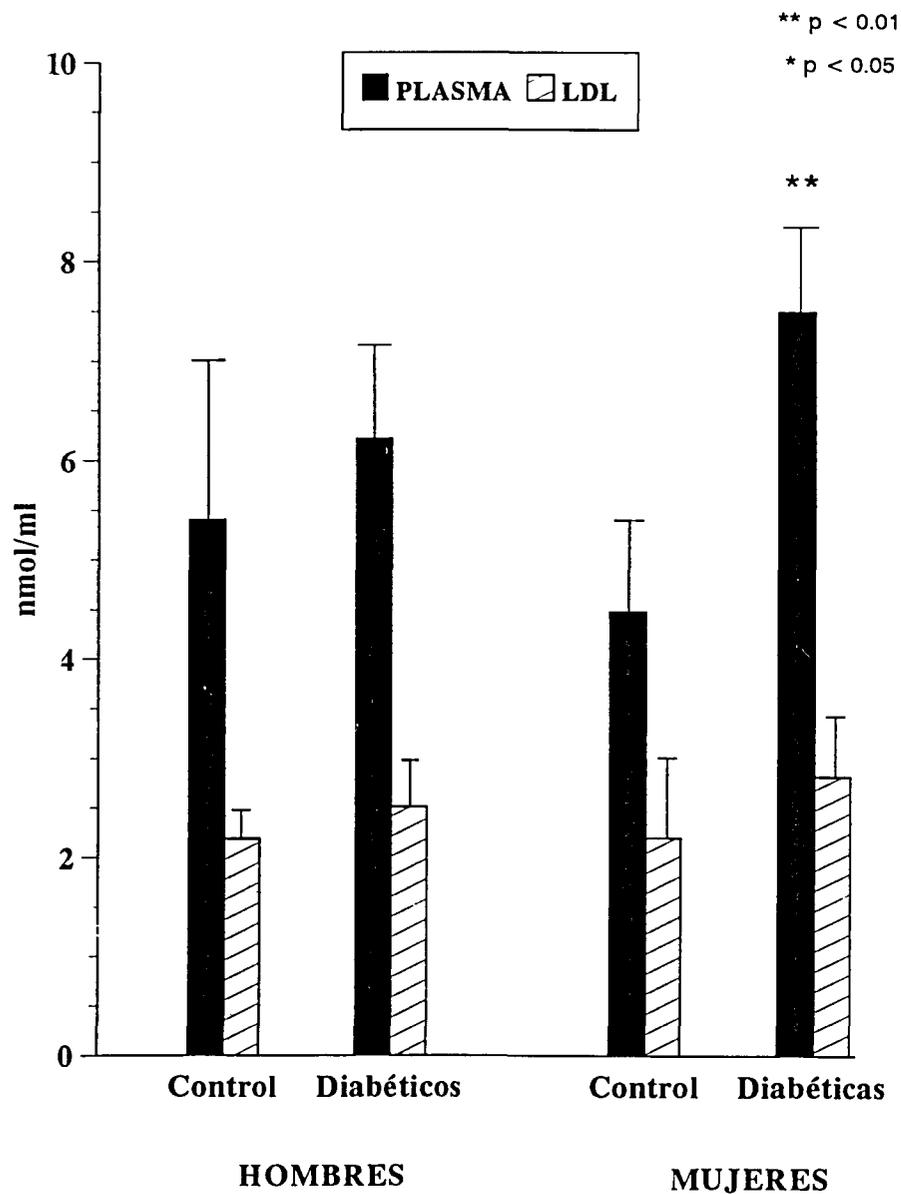
GRAFICA 3.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
PACIENTES DIABETICOS



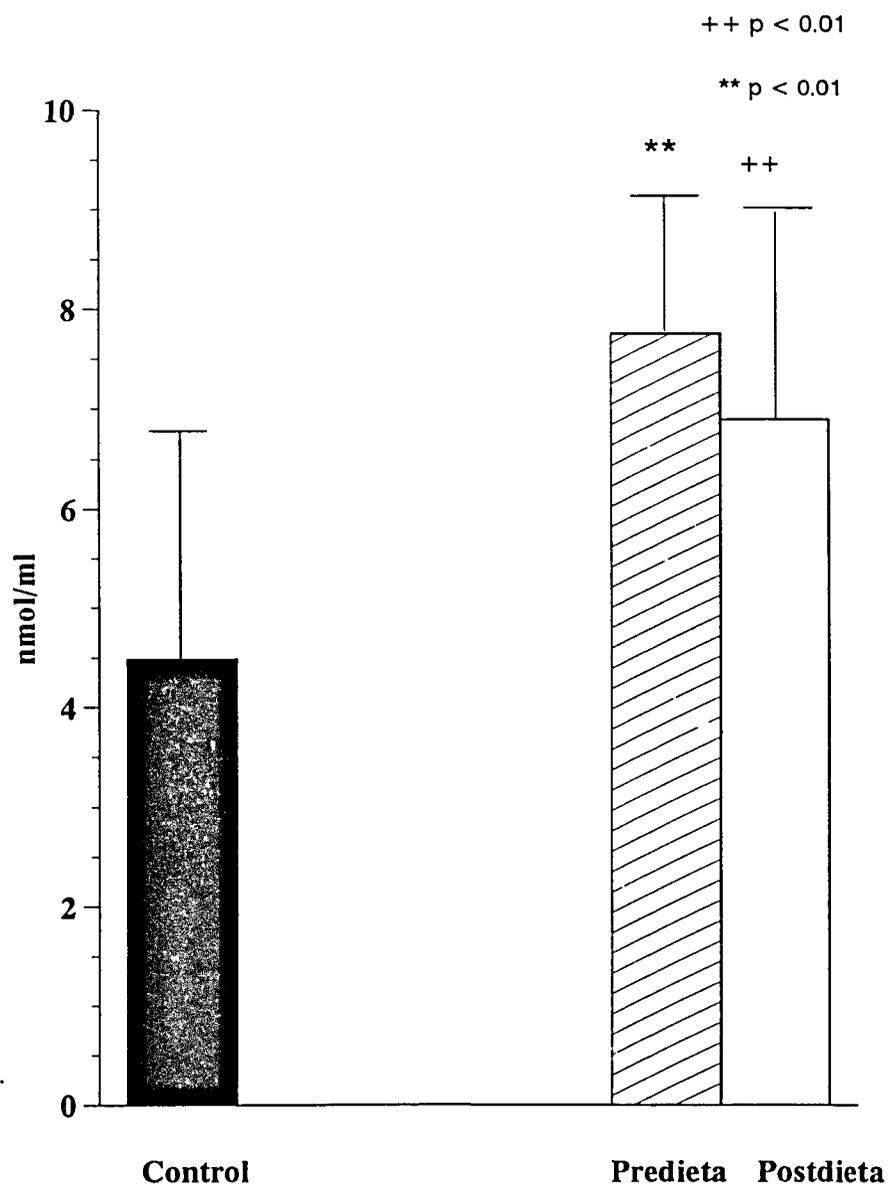
GRAFICA 4.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
PACIENTES DIABETICOS DISTRIBUIDOS POR SEXOS



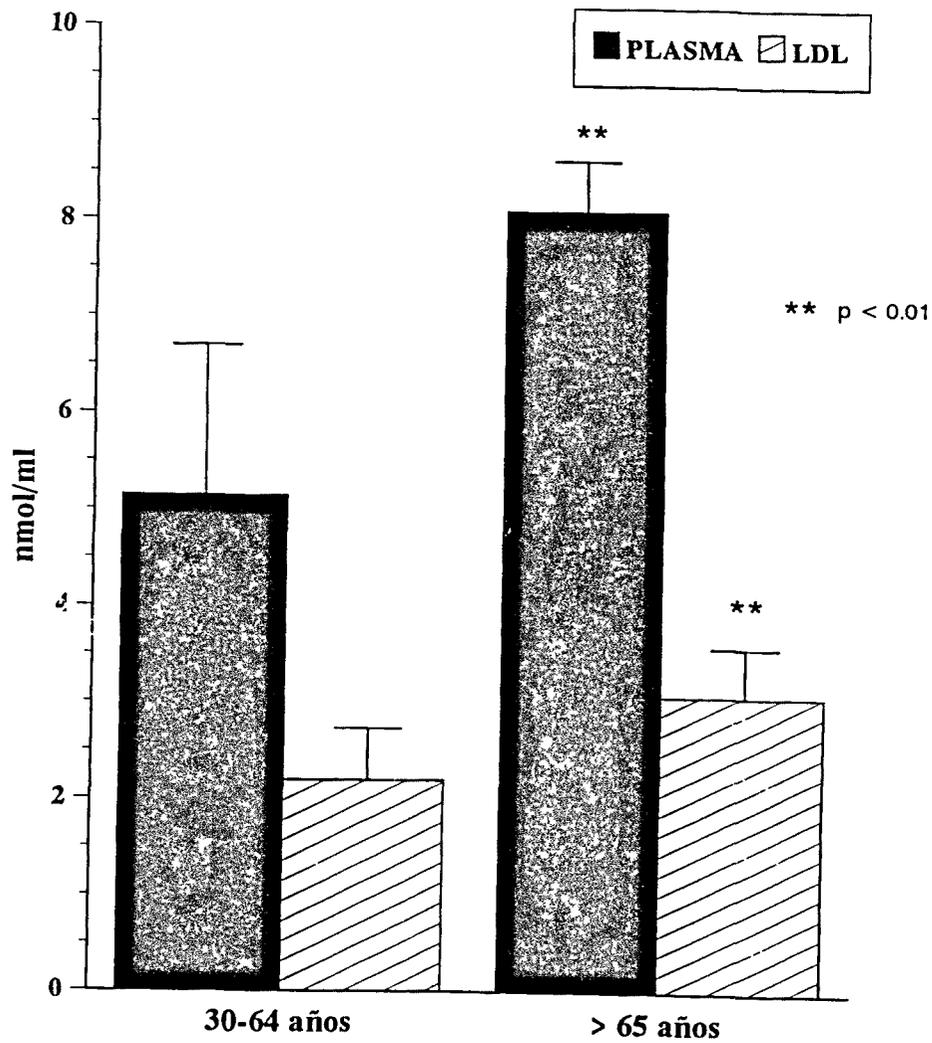
GRAFICA 5.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA
PACIENTES OBESAS



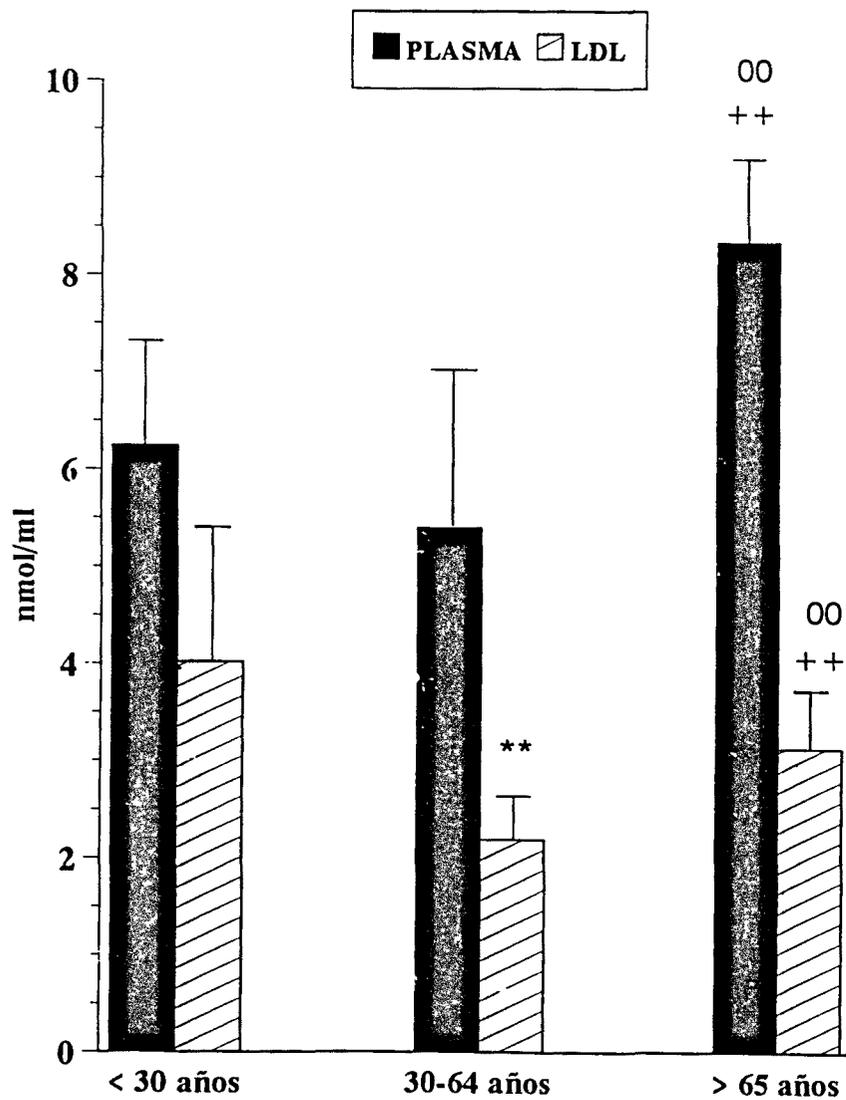
GRAFICA 6.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
INDIVIDUOS SANOS DISTRIBUIDOS POR EDAD



GRAFICA 7.

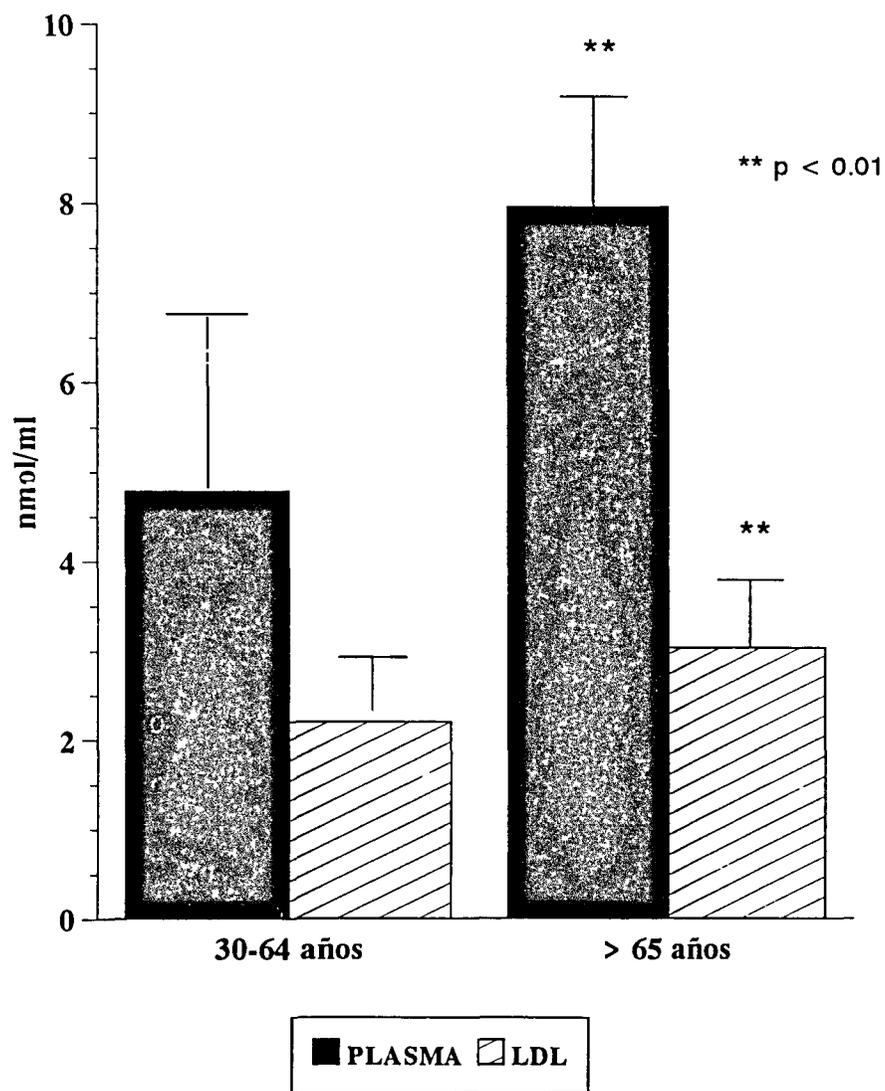
NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
HOMBRES SANOS DISTRIBUIDOS POR EDAD



** $p < 0.01$ comparando grupo control jóvenes con grupo de edad intermedia.
++ $p < 0.01$ comparando el grupo de jóvenes con el grupo de ancianos.
○○ $p < 0.01$ comparando el grupo de edad intermedia con el grupo de ancianos.

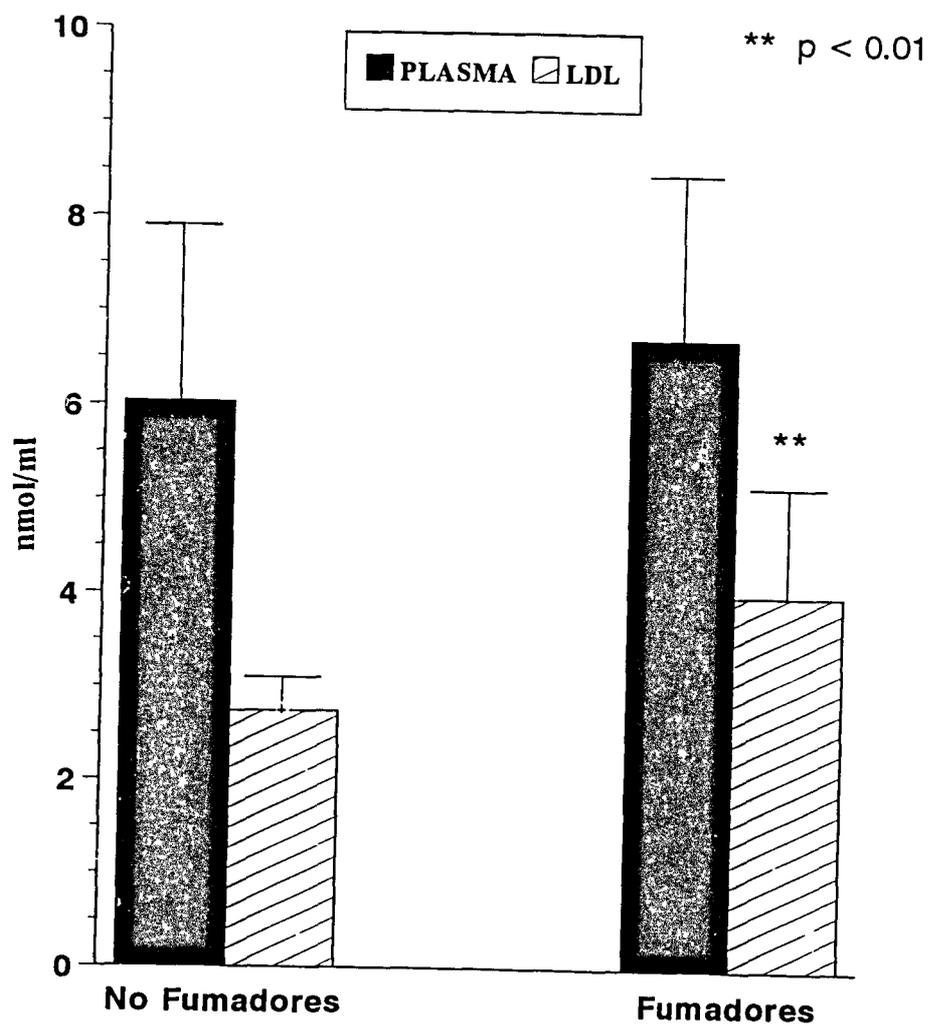
GRAFICA 8.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
MUJERES SANAS DISTRIBUIDAS POR EDAD



GRAFICA 9.

NIVELES DE OXIDACION EN PLASMA Y EN LA FRACCION LDL
HOMBRES SANOS DISTRUBUIDOS SEGUN SU HABITO TABAQUICO



5. DISCUSION

5.1 METODOS UTILIZADOS

5.1.1. OBTENCION DE LA MUESTRA

El grupo de población, sin patología manifiesta, fue reclutada en tres fases, un grupo de edad intermedia, un grupo de jóvenes y finalmente un grupo de ancianos.

A través de la asistencia periódica a la consulta, en un centro de asistencia primaria de nuestra ciudad, se seleccionó un total de cincuenta y ocho personas de edad intermedia, comprendida entre los treinta y sesenta y cuatro años, con características antropométricas similares a nuestro pacientes. Finalmente, el grupo control de edad intermedia utilizado en la comparación con nuestros pacientes, se redujo a treinta y cinco personas, dado que, se excluyeron aquellos en los que se detectaron alteraciones en los valores lipídicos plasmáticos o bioquímicos. La representatividad de la muestra utilizada como grupo control debe matizarse, por cuanto su selección fue muy dirigida a la obtención de sujetos de la población comparables a nuestros pacientes.

Se incluyeron un total de veintisiete jóvenes sanos, de sexo masculino, que

estaban realizando el servicio militar en la Base Aérea de Reus. La representatividad de la población inferior a los treinta años, incluida en el estudio, fue condicionada por el hecho de que todos los componentes fueron varones y reclutamos aquellos que, voluntariamente, aceptaron participar en el estudio.

En este período de la vida, la incidencia de mortalidad cardiovascular es muy bajo, sin embargo, ciertos factores de riesgo como tabaco tienen cada vez una mayor incidencia en edades más tempranas. De ahí, la importancia en valorar el consumo de tabaco como único factor de riesgo influyente en la oxidación lipoproteica en este grupo de edad.

Inicialmente fueron seleccionados un total de veintiséis ancianos de ambos sexos internos en la residencia del "Alt Camp de Valls". La media de edad de este grupo es muy elevada, ello implica que esta muestra posee unas características, especiales no sólo de edad, sino también, en relación a sus hábitos dietéticos, que hace que su representatividad de la población general de su misma edad debe ser relativizada.

Se han estudiado tres grupos de pacientes afectos de alteraciones metabólicas relacionadas con riesgo cardiovascular: pacientes hipercolesterolémicos, diabéticos y obesos.

El grupo de treinta y tres pacientes hipercolesterolémicos fue seleccionado a través de la Unidad de Lípidos del Hospital de Sant Joan de Reus. Solamente veinticinco de ellos se incluyeron en el protocolo final, el resto, fueron excluidos al no cumplir con todos los criterios de inclusión preestablecidos. Consideramos que esta muestra de hipercolesterolémicos no se puede considerar absolutamente representativa de la población general que presentan este trastorno metabólico, ya que nuestros pacientes suelen presentar, la mayoría, cifras muy elevadas de colesterol que hacen difícil su manejo en la asistencia primaria.

El grupo de treinta y dos pacientes diabéticos tipo II, con niveles de colesterol total inferior a los 5.44 mmol/L, fueron seleccionados a través de la Unidad de lípidos del Hospital de Sant Joan de Reus, lo que implica que en algún momento de la evolución de su enfermedad, habían presentado alteraciones en los niveles lipídicos. Tras un período de “wash out” se incluyeron un total de veinte pacientes de ambos sexos, el resto, fueron excluidos por no cumplir con los criterios establecidos. Habitualmente, estos pacientes suelen presentar diversos factores de riesgo cardiovascular asociados como hiperlipemia, hipertensión arterial, obesidad. Nuestro grupo de pacientes no presentaban factores de riesgo asociados. Este hecho debe tenerse en cuenta a la hora de extrapolar los resultados obtenidos a los pacientes diabéticos en general.

Finalmente de un total de treinta y dos pacientes con obesidad mórbida controladas ambulatoriamente en el dispensario de nutrición y obesidad del Hospital de Sant Joan, se seleccionaron un total de veinte pacientes con respuesta inadecuada a la dieta hipocalórica indicada ambulatoriamente. Todas ellas fueron ingresadas durante veintiún días, estando sometidas a una dieta altamente hipocalórica. Las pacientes de este grupo eran únicamente mujeres. Este hecho implica que el grupo presente unas características muy concretas y los resultados obtenidos deben extrapolarse con precaución a poblaciones con características distintas a la población estudiada.

El total de los ciento cincuenta y ocho individuos (93 controles y 65 pacientes), que forman la muestra estudiada, fueron clasificados según su consumo de cigarrillos diarios. Se consideró como no fumadores aquellos cuyo consumo de cigarrillos nulo, o bien de forma muy esporádica, fumadores moderados, cuando el consumo era de hasta diez cigarrillos día y fumadores importantes cuando el consumo diario era mayor de veinte cigarrillos. Dado que el número de pacientes fumadores importantes era muy escaso no se ha podido realizar análisis estadísticos en dicho grupo. Lo mismo ocurrió con las mujeres sin patología, por lo que en el análisis final, sólo se han incluido los varones sanos. Llama la atención la mayor frecuencia de tabaquismo (entre 10 y 20 cigarrillos al día) en el grupo de edad inferior a los treinta años, lo que condiciona también, los hallazgos relacionados con el envejecimiento.

5.1.2 TECNICA UTILIZADA COMO INDICE DE PEROXIDACION LIPIDICA

El malondialdehído (MDA) es un producto que se forma tras la oxidación de los PUFA, por vía enzimática, pero también es uno de los productos finales que se forman en la descomposición de los lípidos peroxidados por vía no enzimática (Janero D. 1990).

El método más utilizado en la medición de los niveles de peroxidación lipídica, tanto “in vitro” como “in vivo”, se basa en la reacción del malondialdehído (MDA) con el ácido tiobarbitúrico (TBA). Mediante esta reacción se forma un complejo con una coloración roja. Para su cuantificación se han utilizado diversos métodos como la espectrofotometría, la fluorimetría o la cromatografía líquida (HPLC). Sin embargo, debemos tener en cuenta que esta reacción se caracteriza por su falta de especificidad, ya que el TBA es capaz de reaccionar con otras muchas sustancias no lipídicas como carbohidratos, pirimidinas, hemoglobina etc. (Knight J. et al. 1988). Es sabido que TBA no sólo reacciona con MDA libre sino también con el MDA formado en la descomposición lipídica inducida por metales (Wade C. et al. 1989). Por ello uno de los primeros problemas que se plantearon fue de qué modo se debía conservar el plasma, o bien, las diferentes fracciones lipoproteicas para evitar la

autooxidación que tiene lugar por la presencia de metales. Fue Schuh et al. quien demostró que mediante la utilización de EDTA este problema quedaba resuelto.

Yagi et al. 1968, fue el primero que aplicó esta técnica para medir los niveles de peroxidación lipídica en suero humano. Posteriormente, esta técnica ha sido aplicada a diversos estados patológicos, entre los cuales, se incluyen enfermedades reumáticas, infarto de miocardio, isquemia cerebral, trastornos hepáticos, toxicidad inducida por metales, pesticidas, medicamentos etc. De todos modos, en la mayoría de estudios se objetiva que las sustancias que reaccionan con el TBA están aumentadas en aquellos pacientes con arteriosclerosis.

Otro inconveniente importante que nos encontramos en la literatura son las diferentes formas en que vienen expresadas las concentraciones de las sustancias que reaccionan con el TBA. La falta de acuerdo, a este respecto, hace que en muchas ocasiones, no sea posible comparar los resultados obtenidos con los de otros autores. Pero incluso utilizando las mismas unidades vemos resultados muy divergentes. Prueba de ello es tabla 33.

A pesar de diversos inconvenientes que presenta la utilización de esta técnica, creemos que es válida si los resultados que se obtienen son interpretados como índice de peroxidación lipídica, siendo en la actualidad, la más ampliamente utilizada.

Tabla 33

VALORES DE TBARS EN SUJETOS SANOS Y CON PATOLOGIA.

Autores	Sujetos	X ± SD
Satoh 1978	35 sujetos sanos 50-60 años	3.7 ± 0.68
	32 pacientes con infarto 50-60 años	4.4 ± 0.74
Szczekilk 1980	17 sujetos normales	2.9 ± 0.1
	6 hiperlipoproteinemia tipo V	3.7 ± 0.3
	4 hiperlipoproteinemia tipo II _a	3.3 ± 0.1
Aznar 1983	95 sujetos sanos	47.2 ± 6.9
	26 infarto de miocardio	< 61
Hagihara 1984	50 sujetos sanos <40 años	3.49 ± 0.62
	52 sujetos sanos >40 años	3.96 ± 0.79
Ledwozyw 1986	15 sujetos sanos	0.94 ± 0.09
	15 pacientes con arterioesclerosis	4.20 ± 0.16
Schimke 1986	20 sujetos normales	3.6 ± 0.8
	27 pacientes con arteriosclerosis	4.1 ± 1.2
	57 12-24 h después de IAM	8.1 ± 4.2
Stringer 1989	75 sujetos normales	3.65(3.2-3.8)
	50 pacientes con IAM	4.37(3.8-5.7)
	50 pacientes con oclusión arterial periférica	4.37(3.8-5.2)
Yalcin 1989	25 sujetos normales	3.4 ± 0.2

Los valores de TBARS se expresan en nmol/mL plasma o suero.

Esterbauer H. 1992

5.2 RESULTADOS

5.2.1. VALORES ANTROPOMETRICOS

El conjunto de individuos sanos, seleccionado como grupo control, es un grupo muy heterogéneo formado por un total de noventa y tres individuos de ambos sexos y con edades que oscilan entre los dieciséis y ochenta y ocho años. Sin embargo, solamente el grupo de individuos entre los treinta y sesenta y cuatro años, fue utilizado como grupo control de los distintos grupos de pacientes de nuestra muestra.

En relación a la edad y el peso, el grupo control no presentó diferencias significativas con respecto a los pacientes hipercolesterolémicos ni con los pacientes diabéticos. En cambio, si que existieron diferencias con respecto al grupo de pacientes con obesidad mórbida. Estas eran mucho más jóvenes que el grupo control. A pesar de ello, hemos creído demostrativo comparar los valores de peroxidación lipídica, con el grupo de mujeres sanas. En el grupo de individuos sanos, distribuidos según su hábito tabáquico, se apreció que en los fumadores la edad y el peso era inferior en relación al grupo de no fumadores. El 50 % de los varones fumadores estaban incluidos en el grupo de menos de treinta años. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el estudio PROCAM.

En el cual, se apreció que el grupo de mayor consumo de cigarrillos, en un 51 %, eran varones entre los dieciséis y veinticinco años.

El índice de quetelet define la masa corporal. Se obtiene calculando el peso en kilos/estatura en m². Se considera la existencia de sobrepeso cuando el IQ es superior a veinticinco, y de obesidad, cuando es superior a los treinta. La obesidad es considerada como mórbida cuando este índice es superior a treinta y cinco. El estudio PROCAM constató que el 8,9 % de los participantes en el estudio presentaban un IQ superior a los treinta (Assmann G. et al. 1990).

Nuestro grupo control presentó un IQ de 26.64 ± 2.60 y no se observaron diferencias en relación a los pacientes hipercolesterolémicos ni diabéticos. En el grupo de pacientes con obesidad mórbida el IQ fue de 42.56 ± 7.83 . Al comparar los individuos sanos en función de su hábito tabáquico se observó que el IQ es inferior en el grupo de fumadores. Si bien, el tabaco se ha relacionado con un mayor gasto energético y por tanto una predisposición a tener un peso bajo, la menor edad del grupo también influye en este hecho.

5.2.2. CONCENTRACIONES LIPOPROTEICAS

Estudiamos diversos parámetros lipídicos (colesterol total, triglicéridos totales, colesterol VLDL, colesterol LDL y colesterol HDL) de los diferentes

grupos que han sido incluidos en el estudio.

El grupo de individuos sanos de ambos sexos, con edad comprendida entre los treinta y sesenta y cuatro años, que fue utilizado como grupo control para todos los pacientes presentó niveles de colesterol total de 5.14 ± 0.99 mmol/L. Estas cifras se encuentran dentro de los márgenes recomendados por el Comité de Expertos de la OMS elaborado en 1981 y por las recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis y por la European Atherosclerosis Society. Los niveles de triglicéridos y el resto de parámetros lipoproteicos se hallaban dentro de los límites de la normalidad.

Los pacientes hipercolesterolémicos eran controlados a través de la consulta externa del Hospital de Sant Joan de Reus. La concentración media de colesterol total y de colesterol LDL fue de 7.80 ± 1.34 y 5.56 ± 1.18 mmol/L respectivamente en el período basal. Tras iniciarse el tratamiento con 500 mg/12 horas de probucol, se observó un descenso significativo ($p < 0.001$) en los niveles de colesterol total (15 y 13%) y a nivel de la concentración de colesterol LDL (14 y 10%) a las doce y veinticuatro semanas, en relación al período basal. El descenso observado a nivel del colesterol HDL fue (24 y 20%) a las doce y veinticuatro semanas respectivamente con $p < 0.01$. El probucol es un fármaco hipolipemiante cuyo mecanismo de acción es desconocido, aunque es sabido que actúa independientemente del receptor LDL. El probucol no sólo descende los

niveles del colesterol LDL sino también el colesterol HDL. Los descensos del colesterol HDL se correlacionan negativamente con la incidencia de cardiopatía isquémica. Sin embargo, el efecto antiaterogénico del probucol es independiente de su acción hipolipemiante (Kuzuya M. et al. 1993). Los descensos observados en nuestros pacientes son muy parecidos a los obtenidos en un estudio de las mismas características, efectuado en diecisiete pacientes hipercolesterolémicos, tras seis meses de tratamiento con probucol a dosis de 1 g/día (Reaven P. et al. 1992).

En el grupo de pacientes diabéticos, tras la retirada de su medicación hipolipemiante habitual, el seguimiento de una dieta hipolipemiante y hipoglicemiante de forma correcta, presentaron una concentración media de colesterol total de 5.28 ± 0.82 y colesterol LDL de 3.34 ± 0.82 mmol/L. Estas cifras fueron discretamente superiores al grupo control, sin observar diferencia significativa.

La concentración media de colesterol VLDL fue inferior al grupo control con una diferencia significativa ($p < 0.01$). En los pacientes diabéticos es más frecuente observar niveles de colesterol VLDL elevados (Hanefeld M. 1991). Sin embargo, Sanllehy C. et al. 1992 describen elevaciones en el colesterol VLDL en pacientes diabéticos tipo II dislipémicos y no en los pacientes diabéticos tipo II normolipémicos. Observamos niveles de colesterol HDL inferiores al grupo

control, aunque sin diferencia significativa. Este dato ha sido descrito por diversos autores (Ishibashi S. et al. 1989) (Sanllehy C. et al. 1992). Si bien los pacientes diabéticos eran asistidos en la Unidad de Lípidos, porque en algún momento de su evolución habían presentado hiperlipemia franca. En el momento del estudio las cifras eran normales y, por tanto, consideramos que los niveles de oxidación lipídica no pueden ser atribuida a la hiperlipemia.

En el grupo de pacientes con obesidad mórbida, se observó, tras ser sometidas a una dieta altamente hipocalórica, durante los veintiún días que duró su ingreso hospitalario, un descenso significativo ($p < 0.01$) del colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL. Los niveles plasmáticos de triglicéridos también descendieron de forma significativa ($p < 0.05$). El colesterol VLDL disminuyó aunque sin diferencia significativa. La pérdida de peso se acompañó de un descenso global de las lipoproteínas plasmáticas. Hecho que ha sido también descrito por otros autores (Shapiro H. et al. 1989), (Barnard R.J. et al. 1992).

En el grupo de individuos sanos distribuidos según su edad, se observó que la concentración media de colesterol total y triglicéridos, así como las diferentes fracciones lipoproteicas eran superiores en el grupo de más edad, en ambos sexos, mientras que el grupo de menos de treinta años las concentraciones fueron menores. El aumento de los valores de colesterol y triglicéridos con la edad es un hecho bien documentado habiéndose atribuido a disminuciones en la actividad del

receptor LDL y de ciertas enzimas. Un estudio realizado en 1991, con una muestra representativa de toda Cataluña, describe los mismos resultados observados por nosotros, en relación a la edad (Plans P. et al. 1991).

La concentración media de colesterol total y las diferentes fracciones lipoproteicas fueron discretamente superiores en el grupo de no fumadores sin presentar diferencia significativa. Los triglicéridos también fueron superiores con una diferencia significativa ($p < 0.05$). El hecho de que el grupo de fumadores esté formado, mayoritariamente, por jóvenes menores de treinta años, explicaría este hallazgo. Así mismo, este grupo presentaba un IQ inferior.

5.2.3. OXIDACION LIPIDICA

5.2.3.1. PACIENTES HIPERCOLESTEROLEMICOS

Como dato muy interesante fue observar que las sustancias que reaccionaban con el TBA fueron mucho más elevadas en el grupo de pacientes hipercolesterolémicos, que en el grupo de individuos sanos control, tanto a nivel de plasma como en las LDL con diferencia significativa. La razón por la cual los pacientes hipercolesterolémicos tienen niveles de peroxidación LDL más elevados es desconocida. Sin embargo, es sabido que el acúmulo de colesterol en la pared

arterial es proporcional a los niveles de colesterol LDL en plasma, de este modo, los pacientes con hipercolesterolemia tienen un riesgo mayor de que se produzca la oxidación de las LDL. Sin embargo, el origen de la oxidación de las LDL en el plasma, se desconoce. Posiblemente, la oxidación de las LDL, tiene lugar a nivel de la pared arterial durante la formación de la placa de ateroma. Ha sido demostrada la presencia de LDL oxidadas en la pared arterial tanto en animales de experimentación como en el hombre (Ylä-Herttuala S. et al. 1989). Las lipoproteínas LDL tienen gran afinidad por los proteoglicanos ricos en condroitinsulfato de la íntima. Ello originará la formación de complejos por la interacción de regiones específicas de la Apo B₁₀₀ con los grupos sulfatos y carboxilo de los proteoglicanos. Se cree que la formación de estos complejos sean posiblemente la causa de la retención focal de las LDL (Camejo G. et al. 1993). Las LDL retenidas en la íntima, pueden sufrir una serie de modificaciones en su composición por la acción de los radicales libres procedentes de los macrófagos (Parthasarathy S. et al. 1986), o de las células endoteliales (Morel D.W. et al. 1984). La modificación sufrida por las lipoproteínas LDL "in situ" interaccionaría con los macrófagos derivados de los monocitos, a través del receptor Scavenger, y ello induciría a la formación de las células espumosas.

En la circulación encontramos niveles muy bajos de lipoproteínas modificadas. Probablemente sea debido a la rapidez con que son eliminadas. La eliminación de las lipoproteínas modificadas tiene lugar mediante la actividad del

receptor Scavenger, por la acción de las células endoteliales o de Kupffer en el hígado y por la acción de las células fagocitarias mononucleares (Gianturco S.H. et al. 1987).

En un estudio multicéntrico se pudo observar que los pacientes con hipercolesterolemia poligénica tenían una actividad del receptor Apo B:E disminuida, así como también su fracción catabólica, ello origina un incremento en la vida media de las LDL y consecuentemente mayor posibilidad de ser oxidadas (International Collaborative Study Group. 1986).

El papel fisiopatológico de las pequeñas cantidades de sustancias que reaccionan con el TBA, detectadas en la fracción LDL, no está claro, porque son necesarias modificaciones importantes a nivel de la LDL para aumentar la unión de estas con los macrófagos. Los resultados obtenidos en estos pacientes podrían ser interpretados como un índice de susceptibilidad a la peroxidación de las LDL, en lugar de ser interpretados como un valor absoluto.

El probucol, como ya se ha comentado, es un fármaco hipolipemiente que actúa descendiendo los niveles de LDL pero también las HDL entre un 20 y 30%, existiendo variaciones individuales importantes, pero además, hay que destacar su potente acción antioxidante. El probucol, es muy lipofílico con una vida media relativamente larga, siendo transportado por sangre, principalmente, por las LDL (Reaven P. et al. 1992).

La oxidación de la lipoproteína LDL tiene lugar cuando los niveles de antioxidantes endógenos disminuyen. Esterbauer H. et al. 1989, demostraron “in vitro” la presencia de LDL oxidadas, tras la disminución de vitamina E y de los β -carotenos. Más recientemente, se ha demostrado que el primer antioxidante liposoluble, que se consume durante el proceso de la oxidación de las LDL, es el ubiquinol-10 (Stocker S.P. et al. 1991). Se ha demostrado que el probucol induce la regresión de los xantomas tendinosos y los xantelasmas en pacientes afectos de hipercolesterolemia familiar homocigota. Esta acción es debida al efecto antioxidante y no al hipolipemiante (Yamamoto A. et al. 1988). Carew T. et al., llevaron a cabo un estudio muy interesante en conejos Watanabe. Se les administró probucol y lovastatina a una dosis hasta lograr disminuir las LDL al mismo nivel. Se objetivó una reducción de las lesiones arterioscleróticas en los conejos que habían recibido probucol, en comparación con los tratados con lovastatina. Esta diferencia se atribuyó al efecto antioxidante del probucol (Carew T.E. et al. 1987).

Existen, en la literatura, diferentes estudios realizados en pacientes hipercolesterolémicos tratados con probucol, que demuestran una mayor resistencia a la oxidación de las LDL “in vitro” (Regnström J. et al. 1990), (Naruszewicz M. et al. 1992).

Nuestros pacientes hipercolesterolémicos, durante el período que fueron

tratados con probucol, mostraron un descenso significativo de las sustancias que reaccionan con el TBA, tanto a nivel del plasma, como a nivel de las LDL. Estos resultados obtenidos “in vivo”, concuerdan con otros ya descritos en la literatura realizados en modelos in vitro (Parthasarathy S. et al. 1986), (Reaven P. et al. 1992). El descenso obtenido a nivel de las LDL oxidadas fue mayor que el obtenido a nivel del plasma, siendo independiente del descenso observado a nivel de los lípidos del plasma. Ello sugiere que la disminución de las sustancias que reaccionan con el TBA no se relacionan con el efecto hipolipemiante.

El descenso de las sustancias que reaccionan con el TBA en plasma y en la fracción LDL observado en los pacientes hipercolesterolémicos tratados con probucol, podría ser de gran interés como índice de menor predisposición de las LDL a ser oxidadas.

5.2.3.2 PACIENTES DIABETICOS

En los pacientes diabéticos tipo II normolipémicos se observó, una mayor concentración de sustancias que reaccionaron con el TBA en plasma como en la fracción LDL al compararlas con el grupo control de individuos sanos, con una diferencia significativa.

Existen dos factores que parecen ser la causa por el cual los niveles de

peroxidación lipídica están elevados en la sangre de los pacientes diabéticos: el aumento de la capacidad oxidativa o el descenso de los antioxidantes.

Se ha sido sugerido que los radicales libres del oxígeno están implicados en el envejecimiento de los tejidos, así como, en la patogenia de las complicaciones de los pacientes diabéticos (Oberley L.W. et al. 1988). Existe la evidencia “in vitro” del aumento en la producción de O_2^- en el suero del paciente diabético. Más recientemente Ceriello et al. “in vivo” encontraron un aumento en la producción O_2^- en el suero del paciente diabético, relacionándolo con el control de la glicemia en sangre. En el paciente diabético, el importante aumento en la producción de O_2^- podría explicarse por el fenómeno de la glicosilación de las proteínas, y por la autooxidación de la glucosa, que además, contribuye a la glicación (Ceriello A. et al. 1991). El aumento de la glicosilación puede acelerar las modificaciones lipídicas a nivel de la pared vascular. Esta suposición fue postulada al observar que las proteínas glicadas generaban radicales libres capaces de incrementar la peroxidación del ácido linoleico y del ácido araquidónico de las membranas (Mullarkey C. et al. 1990).

“In vitro” utilizando ratas diabéticas, se ha demostrado, que los incrementos en la peroxidación lipídica en plasma estaban relacionados directamente con la elevación de la glucosa. Este hecho no ha sido probado “in vivo” (Lyons T.J. et al. 1991).

Existe, en la literatura, diferentes artículos que coinciden en la existencia de un aumento de la peroxidación lipídica en plasma en pacientes diabéticos “in vivo”. Sato et al. 1979, llevó a cabo un estudio con ciento diez pacientes diabéticos y trescientos treinta y uno no diabéticos, observando un aumento en los niveles de peroxidación lipídica en los pacientes diabéticos, pero solamente, en aquellos que presentaban angiopatía. Nishigaki I. et al. 1981, midieron los niveles de peroxidación de las diferentes fracciones, en treinta y un pacientes diabéticos y treinta y dos no diabéticos. Observaron un aumento en la peroxidación lipídica, sin que se determinase la existencia o no de complicaciones vasculares. Kaji et al. 1985, observaron un aumento de los niveles de peroxidación en plasma, en sesenta pacientes diabéticas tipo II, al compararlos al grupo control. Tampoco fue determinada la existencia de complicaciones.

En la mayoría de los estudios se ha determinado la peroxidación lipídica en plasma, existiendo menos datos sobre los valores de oxidación en la fracción LDL. Probablemente, las dificultades técnicas para la determinación de las sustancias que reaccionan con TBA en la fracción LDL, hace que no sea una muy técnica utilizada.

Nuestros resultados muestran que los pacientes diabéticos presentan un aumento de oxidación en la fracción LDL. Este hecho puede ser de gran importancia patogénica, ya que la modificación de esta fracción lipoproteica se ha

relacionado directamente con el desarrollo de la lesión ateromatosa. El hecho de que nuestra población, a parte de la diabetes, no presentara otros factores de riesgo vascular conocido y que sus valores lipídicos estuviesen dentro de los rangos de normalidad, ello sugiere que otros factores de riesgo pueden actuar en el desarrollo de la placa de ateroma en estos pacientes, como sería la modificación de las lipoproteínas y, en concreto, la oxidación.

A pesar de ello, se ha observado que la glicación “in vitro” de la lipoproteínas, aumenta la susceptibilidad de las mismas a la oxidación in vitro.

Es conocido que las LDL contienen en su interior antioxidantes liposolubles. El más abundante de todos ellos es el α -tocoferol. Babiy A. et al, no observaron diferencias entre los niveles de α -tocoferol en pacientes diabéticos y su grupo control. Sugiriendo, que las concentraciones de otros antioxidantes podrían estar ausentes o disminuidas en la fracción LDL de diabético. La administración de probucol a estas pacientes, incremento la resistencia a la oxidación de las LDL. Otros autores, han comunicado la inhibición “in vitro” de la citotoxicidad inducida por las lipoproteínas oxidadas, al tratar ratas diabéticas con antioxidantes como la vitamina E y con probucol (Guy M. et al. 1988).

La HbA_{1c} de nuestros pacientes diabéticos fue de 9.14 ± 1.79 siendo los valores de referencia de nuestro laboratorio entre 4.5-7. A pesar que la HbA_{1c} fue alta, no se observó correlación con los valores de peroxidación en plasma ni

en LDL. Estos pacientes no presentaban otros factores de riesgo que pudieran originar elevaciones de las sustancias que reaccionan con el TBA. La tensión arterial sistólica fue de 135 ± 15.73 y la diastólica fue de 79.47 ± 6.05 , además, todos ellos eran no fumadores.

Ninguno de nuestros pacientes siguió tratamiento con insulina, con lo cual, los efectos de esta variable quedan descartados en nuestro grupo. Los pacientes que seguían tratamiento con hipoglicemiantes orales, no era lo suficientemente numeroso para poder obtener los posibles efectos que la medicación pudiera tener en la generación de peroxidación, así como, tampoco hemos hallado datos en la literatura al respecto.

5.2.3.3. PACIENTES OBESAS

Las pacientes afectas de obesidad mórbida, incluidas en el estudio, presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma elevados.

El hecho de que el grupo control estuviera formado por mujeres de edad superior a las pacientes, refuerza dicho incremento en la peroxidación lipídica, en cuanto a la edad, como veremos más adelante, se asocia a un incremento de la oxidación.

La asociación de obesidad con peroxidación no ha sido comunicado en la literatura, por lo que no podemos establecer una discusión comparativa al respecto, si bien la obesidad se ha considerado un factor de riesgo para la cardiopatía isquémica (Hubert M.B. et al. 1983). Se consideraba que otros factores de riesgo se asociaban a la misma, y eran los causantes de la aceleración de la enfermedad vascular. Recientemente, se ha obtenido evidencias de la relación directa del sobrepeso con la enfermedad coronaria. No se conocen cuales son los factores dependientes directamente de la obesidad que puedan favorecer el desarrollo de la aterosclerosis. El hecho de que el grupo estudiado por nosotros, no presentara otros factores de riesgo conocido ya que eran normolipémicas, normotensas, no fumadoras y, a pesar de ello, existía un incremento de la peroxidación, ello podría sugerir que este fuera un factor a valorar en el incremento del riesgo vascular en estos pacientes. No podemos olvidar que nos referimos a pacientes con obesidad mórbida, por lo que la extrapolación a las formas más frecuentes de obesidad, debe realizarse con precaución, ya que probablemente se trata de procesos metabólicos distintos.

Las circunstancias que pueden favorecer el incremento de factores oxidativos en las pacientes obesas no se conocen, debiéndose considerar desbalances entre los factores generadores de radicales libres y la actividad enzimática antioxidante. La determinación de la actividad de la catalasa superóxido dismutasa, glutatión dismutasa así como niveles de vitamina E o

β -carotenos pudieran ser de ayuda en el conocimiento de la capacidad peroxidante del plasma de las pacientes obesas. En la actualidad, no se conocen datos al respecto. Tras veintiún días de dieta altamente hipocalórica las cifras de peroxidación en el plasma descendieron de forma significativa ($p < 0.01$). Dado que el preparado no aportaba exceso de sustancias conocidas como antioxidantes (vitamina E, vitamina C etc.), cabe deducir, que el descenso de los niveles de peroxidación observados está en relación con la disminución en el peso de las pacientes. Por tanto, consideramos que factores ligados directamente a la existencia de sobrepeso, son los responsables de la presencia de un mayor concentración de peroxidación lipídica en plasma y que probablemente una acción terapéutica adecuada en la reducción del peso corporal.

5.2.3.4. EDAD Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Hemos observado que tanto los varones como las mujeres de edad comprendida entre los treinta y sesenta y cuatro años, presentaban una concentración de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL inferior a la del grupo de sujetos de más de sesenta y cuatro años.

El grupo de varones jóvenes presentaba unas cifras de peroxidación lipídica en la fracción LDL más altas que el resto de los grupos, sin embargo, la alta prevalencia de tabaquismo en este grupo, a diferencia de los otros dos, puede

explicar estos hallazgos.

Creemos que la elevada concentración de peroxidación lipídica en el grupo geriátrico está en consonancia con las teorías que propugnan que durante el envejecimiento se produce un incremento de los radicales libres y por lo tanto de peroxidación (Walton J.R. et al. 1980). En concreto, la hiperproducción de radicales libres tendrá un papel en el desarrollo de dicho proceso, ya que sus efectos van más allá que los derivados de la oxidación de las lipoproteínas. Otra alteración que se puede producir a consecuencia de la oxidación sería la alteración del colágeno, elastina, DNA, rotura de las cadenas de mucopolisacáridos, acúmulo de sustancias inertes, cambios en las características de las membranas de las mitocondrias y lisosomas, fibrosis de las arterias y capilares secundarias a lesiones originadas por productos resultantes de la peroxidación, tanto del suero como de los componentes de la pared vascular. Estas lesiones pueden llevar a la muerte celular y al envejecimiento, sí bien en animales de experimentación muy elementales se ha observado una prolongación de la vida, mediante la administración de agentes antioxidantes como la superóxido dismutasa, el α -tocoferol o la vitamina E. Esto no ha podido ser demostrado en el hombre, ni en animales de experimentación de estirpe superior. Asimismo, no ha podido evidenciarse una pérdida significativa de las actividades enzimáticas antioxidantes durante el envejecimiento.

En nuestro grupo tanto los varones como las mujeres ancianos presentaban unos valores de colesterol total superiores a la del grupo de edad intermedia, aunque sólo en el segundo caso con diferencia significativa. Si bien la hipercolesterolemia “per se”, como hemos demostrado previamente, se asocia a unos valores más altos de productos de peroxidación lipídica en plasma y LDL, no creemos que esto explique las diferencias encontradas entre los distintos grupos de edad, en primer lugar, porque en el grupo de varones las diferencias no fueron significativas y además las concentraciones totales estaban dentro del rango de la normalidad.

Tanto en el grupo de varones como de mujeres, se observó una correlación directa entre la edad y los productos de peroxidación en plasma y la fracción LDL. Al analizar en el grupo varones a los sujetos de menos de treinta años esta correlación perdía significación estadística, en el caso de la oxidación plasmática, e incluso se invertía en el caso de la fracción LDL. Este fenómeno se corregía radicalmente al excluir al grupo de jóvenes. Creemos que debe vincularse a los altos niveles de productos de oxidación tanto en plasma como en LDL que hemos observado en dichos individuos. Creemos que la única explicación posible de este fenómeno es la alta prevalencia de tabaquismo cercano al 63% en este grupo, a diferencia de los otros grupos de edad cuya prevalencia de tabaquismo era del 26%.

La cuidada selección del grupo de individuos geriátricos hace que podamos excluir la existencia de otros factores metabólicos, la acción de patología asociada o bien, al uso indiscriminado de medicamentos como causa de una mayor concentración de peroxidación en dicho grupo. Asimismo, el reducido número de fumadores activos en este grupo impide atribuir a esta variable el incremento de los productos de peroxidación lipídica en estos sujetos.

El incremento de la incidencia de la enfermedad vascular con la edad, es un hecho perfectamente demostrado, habiéndose atribuido a factores diversos como la mayor prevalencia de los factores de riesgo vascular tradicionales.

Nuestros resultados sugieren que, independientemente de los factores, la modificación lipoproteica secundaria a la oxidación, probablemente vinculada de forma directa al hecho del envejecimiento, debe considerarse como un factor adicional probablemente de gran trascendencia clínica.

5.2.3.5. TABACO Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

El grupo de varones sanos fumadores presentó concentraciones de peroxidación lipídica superiores al grupo de no fumadores en plasma y en la fracción LDL con diferencia significativa en esta última ($p < 0.01$). Hay que

destacar, que la edad media del grupo de fumadores es inferior a la de los no fumadores con una diferencia significativa ($p < 0.05$). Este hecho es importante, ya que, de este modo, podemos descartar la influencia de la edad en las concentraciones de peroxidación lipídica. También podemos descartar la influencia de los niveles de colesterol plasmáticos, ya que se observaron cifras superiores en el grupo de no fumadores.

En el estudio de Framingham, el riesgo de mortalidad coronaria súbita fue diez veces mayor en los varones fumadores y cuatro veces y media en las mujeres fumadoras. Se ha visto que el incremento del riesgo se asocia con el aumento en el número de cigarrillos consumidos. Se ha demostrado, estadísticamente, que el consumo de veinte o más cigarrillos al día, duplica el riesgo de padecer cardiopatía isquémica. La interrupción del consumo de cigarrillos reduce la incidencia de reinfartos y de muerte súbita, en un porcentaje que oscila entre el 20 y el 50%.

Es un hecho conocido, es que el consumo de tabaco acelera el proceso de aterosclerosis. Se ha encontrado mayor ateromatosis aórtica en los fumadores, existiendo una correlación entre el número de cigarrillos consumidos y la duración del hábito. Booyse et al. demostraron que la administración de nicotina en conejos blancos de Nueva Zelanda, durante un período de veinticinco semanas, originaba un aumento en las concentraciones de colesterol total, triglicéridos, y en la

fracción LDL. También se observaron cambios morfológicos a nivel de las células endoteliales de la arteria aórtica (Booyse F.M. et al. 1981). Zimmerman M. et al. objetivaron un incremento en la permeabilidad del endotelio en ratas tratadas con nicotina al compararlas con las no tratadas, sugiriendo que la nicotina contribuye a la patogenia de los trastornos arteriales en los fumadores (Zimmerman M. et al. 1987). La nicotina tiene un efecto vasotóxico sobre el endotelio vascular. Pero además, incrementa la liberación de ácidos grasos, originando un aumento en la síntesis hepática de lipoproteínas de muy baja densidad, que mediante la acción de la lipoproteína lipasa, se convierten en lipoproteínas de baja densidad y finalmente origina la disminución del colesterol HDL. Otro producto derivado del consumo del tabaco es el monóxido de carbono (CO). Este tiene una gran afinidad por la hemoglobina doscientas cincuenta veces superior al oxígeno. Como consecuencia del desplazamiento de la curva de disociación de la hemoglobina hacia la izquierda, la disponibilidad del oxígeno para el miocardio queda reducido. Otra acción debida al CO es el aumento de la secreción de colesterol total y consecuentemente de la fracción LDL. También se ha descrito que predispone al aumento de la agregación plaquetaria (Jover E. 1987).

La medición de las concentraciones de oxidación lipídica en fumadores publicados en la literatura, se realizan en individuos fumadores que tras un período corta de abstinencia, consumen de forma continuada un número

determinado de cigarrillos. Harats D. et al. 1990, midieron las sustancias que reaccionaban con el TBA en tres grupo de fumadores. Dos grupos recibieron durante cuatro semanas suplementos de vitamina C y E. El tercer grupo no recibió ningún' suplemento vitamínico. Se determinó las sustancias que reaccionaban con el TBA tras un período de abstinencia de cuarenta y ocho horas y a los noventa minutos de haber consumido de cinco a siete cigarrillos. Observaron, niveles de oxidación más elevados tras el consumo de cigarrillos en el grupo de fumadores que no había recibido ningún tratamiento. En cambio, en los dos grupo que habían recibido suplementos vitamínicos, no se observaron diferencias significativas. Esterbauer et. al, demostraron, experimentalmente, la resistencia a la oxidación de la fracción LDL en presencia de la vitamina E, iniciándose la peroxidación de la LDL, tras el agotamiento de las reservas de la vitamina E.

El diseño utilizado en nuestro estudio, difiere de los llevados a cabo por otros autores. Nosotros determinamos en el grupo de fumadores, los niveles de oxidación en plasma y en la fracción LDL , sin período previo de abstinencia si bien la extracción sanguínea se realizaba a primera hora de la mañana en ayunas, y los sujetos no habían fumado desde la noche anterior.

El hecho de que nuestro grupo de fumadores fuesen individuos sanos, y la mayoría de ellos, con edad inferior a los veinte años, y con niveles lipídicos

inferiores al grupo de no fumadores, sugiere que los niveles elevados de sustancias que reaccionan con el TBA obtenidos en la fracción LDL, está directamente relacionado con el consumo de tabaco.

El tabaco produce gran cantidad de radicales libres en plasma y, probablemente, como efecto directo de los productos tóxicos (monóxido de carbono, nicotina y alquitran) se produciría la peroxidación lipídica en tejidos y en plasma. Nuestros resultados deben ser interpretados como una facilitación a la peroxidación por arte del tabaco, dadas las características técnicas de nuestras determinaciones de productos que reaccionan con el TBA.

Si bien observamos una correlación positiva significativa entre las concentraciones de colesterol y los productos que reaccionan con el TBA en plasma, no creemos que esta sea la causa de unas mayores concentraciones de TBA en dicho grupo, por cuanto las cifras de colesterol total entre fumadores y no fumadores no mostraron diferencias significativas estando dentro de los límites normales < 5 mmol/L.

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1- Los sujetos con factores de riesgo vascular incluidos en el estudio (hipercolesterolémicos, diabéticos y obesas), presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL superiores al grupo control.

- 2- Los pacientes hipercolesterolémicos (10 ♂ y 15 ♀), presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma y la fracción LDL superiores en un 33% y en un 32% ($p < 0.01$), al grupo control.

- 3- El tratamiento con probucol redujo los niveles de peroxidación lipídica en plasma, en un 42% y en un 36%, a nivel de las LDL de forma significativa ($p < 0.01$), independientemente de su acción hipolipemiente.

- 4- Los pacientes diabéticos (9 ♂ y 11 ♀) presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma y LDL superiores en un 26% y en 19% ($p < 0.01$) al grupo control. No se observó correlación entre los niveles de oxidación y la Hb A₁C.

- 5- Las pacientes obesas presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma elevados (7.75 ± 1.71) que disminuyeron (6.89 ± 2.14) de forma

significativa ($p < 0.01$), tras un período dietético.

6- Los individuos (12 ♂ y 19 ♀) de más de sesenta y cinco años presentaron niveles de peroxidación lipídica en plasma y en la fracción LDL superiores en un 35% y un 30% respectivamente a los sujetos de edad comprendida entre los treinta y sesenta y cuatro años. Los varones menores de treinta años, también presentaron valores de peroxidación en plasma inferiores al grupo de más de sesenta y cinco años, aunque en la lipoproteína LDL, la peroxidación fue superior.

7- En el grupo de varones fumadores se observaron unos niveles de peroxidación lipídica en la fracción LDL, significativamente, superiores al grupo de no fumadores en un 31%. En plasma estas diferencias no fueron significativas.

7. ANEXOS

ACAT = Acil-Co A Colesterol Aciltransferasa.

Apo-B = Apoproteína B.

bFGF = Factor de crecimiento básico de los fibroblastos.

C-HDL = Colesterol HDL.

C-LDL = Colesterol LDL.

C-PL = Colesterol plasma.

C-VLDL = Colesterol VLDL.

CASS = Coronary Artery Surgery Study.

CDP = Coronary Drug Project.

CETP = Proteína de transferencia de colesterol éster.

CML = Células musculares lisas.

CSFs = Factor de estimulación de colonias.

DMND = Diabetes mellitus no insulino dependiente.

EGF = Factor de crecimiento de la epidermis.

ET = Endotelina.

H[•] = Radical hidrógeno.

HB-EGF = Heparin-binding epidermal growth factor 1.

HBP = Proteína de unión HDL.

HDL = Lipoproteína de alta densidad.

HMG-Co A = 3-Hidroxi-3-Metil-Glutaril-Coenzima A Reductasa.

IAM = Infarto agudo de miocárdio.

IDL = Lipoproteína de densidad intermedia.

IFN = Interferón.

IGF-1 = Insulin-like growth factor 1.

IL-1 = Interleukina-1.

IQ = Índice de quetelet.

LCAT = Lecitina colesterol acil transferasa.

LDL = Lipoproteína de baja densidad.

LDLox = Oxidación de la fracción LDL.

LP(a) = Lipoproteína (a).

LPL = Lipoproteína Lipasa.

LRC-CPPT = Lipid Research Clinica Coronary Primary Prevention Trial.

LRP = Proteína del receptor LDL.

MCP-1 = Proteína 1 quimiotáctil del monocito.

MDA = Malondialdehído.

MRFIT = American Multiple Factor Risk Intervention Trial.

NO = Oxido nítrico.

OH· = Radical hidroxilo.

OMS = Organización Mundial de la Salud.

OX-LDL = Oxidación en la fracción LDL.

OX-PL = Oxidación plasmática.

PDGF = Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

PGCS = Condroitinsulfato.

PGI₂ = Protaciclina.

PUFA = Ácidos grasos poliinsaturados.

Q = Quilomicrones.

TBA = Ácido tiobarbitúrico.

TBARS = Sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico.

TG-PL = Triglicéridos plasma.

TGF β = Factor de crecimiento transformante β .

TNF α = Factor de crecimiento tumoral α .

VLDL = Lipoproteína de muy baja densidad.

8. BIBLIOGRAFIA

Arai H., Kita T., Yokode M., Narumiya S., Kawai C. Multiple receptors for modified low density lipoproteins in mouse peritoneal macrophages: Different putative mechanisms for acetylated and oxidized low density lipoproteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989; 159:1375-1382.

Assmann G., Sculte H. Diabetes melitus and hypertension in the elderly: concomitant hyperlipidemia and coronary heart disease risk. *Am. J. Cardiol.* 1989; 63:33H-38H.

Assman G., Shulte H. Resultados y consecuencias del estudio de prospección cardiovascular Münster (Estudio PROCAM). En: Transtornos del metabolismo de los lípidos y cardiopatía coronaria. Assman G., Carmena R. Editorial Médica, Munich 1990; pp:99-134.

Babiy A., Gebicki J., Sullian D., Willey K. Increased oxidizability of plasma lipoproteins in diabetic patients can be decreased by probucol therapy and is not due to glycation. *Biochem. Pham.* 1992; 43:995-1000.

Baker S.G., Joffe B.I., Mendelson D., Seftel H.C. Treatment of homozygous familial hypercholesterolemia with probucol. *South Afr. Med. J.* 1982; 62:7-11.

Balanyá J., Turner P.R. Estructura y función de las LDL. En Temas actuales en hiperlipidemias y arteriosclerosis. Eds. Rubiés-Prats J. Ed:Espaxs, Barcelona 1992; pp:65-81.

Balanyà J. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Rovira i Virgili, Reus. 1993.

Barakat H.A., Carpenter J.M., Mclendon V.D., Khazanie P., Leggett N., Heath J., Marks R. Influence of obesity, imparied glucose tolerance, and NIDDM on LDL structure and composition. Possible link between hyperinsulinemia and atherosclerosis. *Diabetes* 1990; 39:1527-33.

Barbaras R., Puchois P., Fruchadt J.C., Pradines A., Ailhaud G. Purification of an apolipoprotein A binding protein from mouse adipose cells. *Biochem J.* 1990; 269:767-773.

Barnard R.J., Ugianskis E.J., Martin D., Inkeles S. Role of diet and exercise in the management of hyperinsulinemia and associated atherosclerotic risk factors. *Am. J. Cardiol.* 1992; 69:440-444.

Barnett P.A., Gonzalez R.G., Chylack L.T., Cheng H. The effects of oxidation on sorbitol pathway kinetics. *Diabetes* 1986; 35:111-117.

Baynes J. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40:405-412.

Beisiegel U., Webwer W., Ihrke G. A new Apo E receptor? *Circulation* 1989; 80:86-90.

Berenson G.S., Wattigney W., Tracy R.E., Newman W.P., Srinivasan S.R., Webber L.S., Dalferes E.R., Strong J.P. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am. J. Cardiol* 1992; 70:851-858.

Bonanome A., Pagman A., Biffanti S., Opportuno A., Sorgato F., Dorella M., Maiorino M., Ursini F. Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidate modification. *Arterioscle and Thromb* 1992; 12:529-533.

Booyse F.M., Osikowics G., Quarfoot-A.J. Effects of chronic oral consumption of nicotine on the rabbit aortic endothelium. *Am. J. Pathol.* 1981; 102:229-38.

Brown M.S., Goldstein J.L. A receptor mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47.

Brown M.S., Faust J.R., Goldstein J.L. Role of the low density lipoprotein receptor in regulating the content of free and esterified cholesterol in human fibroblasts. *J. Clin. Invest.* 1975; 55:783-793.

Brown M.S., Goldstein J.L. Lipoprotein metabolism in the macrophages: Implications for cholesterol deposition atherosclerosis. *Ann. Rev. Biochem.* 1983; 52:223-261.

Brown M.S., Goldstein J.L. Scavenging of receptors. *Nature* 1990; 343:508-509.

Bruce A., Freeman Ph.D., James D., Crapo M.D.: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 1982; 47:412-25.

Camejo G., Sven-Olof O., Lopez F., Carlsson P., Bondjers G. Identification of Apo-100 segments mediating the interaction of low density lipoproteins with arterial proteoglycans. *Arteriosclerosis* 1988; 8:368-377.

Camejo G., Hurt E., Wiklund O., Rosengren B., Lopez F., Bondjers G. Modifications of low-density lipoprotein induced by arterial proteoglycans and chondroitin-6-sulfate. *Biochim. Biophys. Acta* 1991; 1096:253-261.

Camejo G., Hurt-Camejo E., Wiklund O., Bondjers G. Bases moleculares de la posible contribución de modificaciones oxidativas de las lipoproteínas a la aterogénesis. *Clin. Invest. Arteros.* 1993; 5:73-83.

Capdevila J., Paerhill L., Chacos N., Okita R., Master B., Estabrook R.W.: The oxidative metabolism of arachadonic acid by purified cytochromes P₄₅₀. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1981; 101:1357-1362.

Carew T., Schwenke D., Steinberg D. Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect: Evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84:7725-7729.

Carmena R., Ros E., Gómez-Gerique J.A., Masana LL., Ascaso J.F. Recomendaciones para la prevención de la arteriosclerosis en España. Documento Oficial de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. *Clin. Invest. Arterios.* 1989; 1:1-9.

Castelli W.P., Abbott R., Mcnamara P. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* 1983; 67:730-734.

Ceriello A., Giugliano D., Quatrato A., Dello Russo P., Lefèvre P.J. Metabolic control may influence the increased superoxide generation in diabetic serum. *Diab. Med.* 1991; 8:540-542.

Cotran R.S., Munro J.M. Patogenia de la arteriosclerosis. Conceptos recientes. En *El papel del colesterol en la aterosclerosis. Nuevas posibilidades terapéuticas.* Eds: Grundy S.M., Bearn A. Madrid, Jarpyo Editores 1989; pp:5-22.

Dayton S., Pearce M.L., Hashimoto S., Dixon W.J., Tomiyasu U. A controlled clinical trial of a diet high in unsaturated fat in preventing complications of atherosclerosis. *Circulation* 1969; 40:1-63.

Dieber-Rothenerder M., Puhl H., Waeg G., Striegl G., Estarbauer H. Effect of oral supplementation with D- α -tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation. *J. Lipid Res.* 1992; 32:1325-1332.

Digirolamo H. Cellular, metabolic, and clinical consequences of adipose mass enlargement in obesity. *Nutrition* 1991; 7:287-289.

Dolphin P.J. Lipoprotein metabolism and the role of apolipoprotein as metabolic programmers. *Can. J. Biochem* 1985; 63:850-869.

Enos W.F., Homes R.H., Bayer J.C. Coronary disease among United States soldiers killed in action in Korea. *JAMA* 1953; 152:1090-1093.

Esterbauer H., Lang J., Zadavec S., Slater T.F. Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.* 1984; 105:319-328.

Esterbauer H., Jürgens G., Quehenberger O., Koller E. Auto-oxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J. Lipid Res.* 1987; 28:495-509.

Esterbauer H., Striegl G., Puhl H., Rotheneder M. Continuous monitoring of in vivo oxidation of human density lipoprotein. *Free Rad. Res. Commun* 1989; 6:67-75.

Esterbauer H., Dieber-Rothenerdr M., Warg G., Striegl G., Jürgens G. Biochemical, structural and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chemical Res. Toxicol.* 1990; 3:77-92.

Esterbauer H., Puhl H., Dieber-Rothenerder M., Waeg G., Rabl H. Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann. Med.* 1991; 23:573-581.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology.* 1992; 13:341-90.

European Atherosclerosis Society (EAS). Estrategias para la prevención de la cardiopatía coronaria. En: Transtornos del metabolismo de los lípidos y cardiopatía coronaria. Assman G., Carmena R. Editorial Médica, Munich 1990; pp:13-35.

Fogelman A.M., Shechter I., Saeger J., Hokom M., Child J.S., Edwards P.A. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1980; 77:2214-2218.

Frankel E.N., Neff W.E. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. *Biochim. Biophys. Acta* 1983; 754:264-270.

BIBLIOGRAFIA

Frei B., Stocker R., Ames B. Anti-oxidants defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85:9748-9752.

Frick M.H., Elo O., Haapa K., Heinonen O.P., Heinsalmi P., Helo P., Huttunen J.K., Kaitanieniemi P., Koskinen P., Manninen V. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia:safety in treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317:1237-1245.

Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chessebro J. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326:310-318.

Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chessebro J. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326:242-250.

Gey F., Puska P., Jordan P., Mose U.K. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53:326-334.

Gianturco S., Bradley W. Lipoprotein receptors. En *Plasma Lipoproteins*: Gotto A.M., Ed: Elsevier. Amsterdam 1987; pp:183-220.

Girotti A.W. Mechanisms of lipid peroxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 1985; 1:87-95.

Gisinger C., Virella G.T., Lopes-Virella M.F. Erythrocyte-bound low-density lipoprotein immune complexes lead to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-derived macrophages. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1991; 59:37-52.

Gluek C.J., Mc Gill H., Shank R.E. Value and safety of diet modification to control hyperlipidemia in childhood and adolescence. *Circulation* 1978; 58:381-385.

Goldstein J.L., Brown M.S. Lipoprotein receptor, cholesterol metabolism and arteriosclerosis. *Arch. Pathol.* 1975; 99:181-184.

Goldstein J.L., Ho Y. K., Basu S.K., M.S. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1979; 76:33-37.

Graham D.L., Oram J.F. Identification and characterization of a high density lipoprotein-binding protein in cell membranes by ligand blotting. *J. Biol. Chem.* 1987; 262:7439-7422.

Guy M., Chilsom ., Morel D. Lipoprotein oxidation and cytotoxicity: Effect of probucol on streptozotocin-treated rats. *Am. J. Cardiol.* 1988; 62:20-26.

Guy M., Kimberly C., Irwin C., Penn M. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cell injury in diabetes. *Diabetes* 1992; 41:61-66.

Guzman M.A., McMahan C.A., McGill H.C. Selected methodology aspects of the international atherosclerosis project. *Lab. Invest.* 1968; 18:479-497.

Halliwell B., Gutteridge J.M. Oxygen is poisonous-an introduction to oxygen toxicity and free radicals. En *Free radicals in biology and medicine*. Eds: Halliwell B., Gutteridge J.M. Ed: Oxford Science Publications, New York 1985; pp:1-19.

Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, Biochemistry, and role in human disease. Proceedings of a symposium: Oxidants and antioxidants: Pathophysiologic determinants and therapeutic agents. *Am. J. Med.* 1991; 91:14-22.

Hanefeld M. Diabetes, obesity and dyslipoproteinemia. Implications for atherosclerosis. *Clin. Invest. Arteriosclerosis* 1991; 3:171-177.

Hansson G.K., Jhansson L., Siefert P.S. Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1989; 9:567-568.

BIBLIOGRAFIA

Harats D., Ben-Nain M., Dabach Y., Hollander G., Stein O., Stein Y . Cigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages. *Atherosclerosis* 1989; 79:245-52.

Harats D., Ben-Nain M., Dabach Y., Hollander G., Havivi E., Stein O., Stein Y. Effect of vitamin C and E supplementation on susceptibility of plasma lipoprotein induced by acute smoking. *Atherosclerosis* 1990; 85:47-54.

Harats D., Dabach Y., Hollander G., Ben-Nain M., Schwartz-R., Stein O., Stein Y. Fish oil ingestion in smokers and nonsmokers enhances peroxidation of plasma lipoproteins. *Atherosclerosis* 1991; 90:127-39.

Havel R.J., Shore V.G., Shore B., Bier D.M. Role of specific glycopeptides of human serum lipoprotein in the activation of lipoprotein lipase. *Circ. Res.* 1970; 27:595-600.

Havel R.J., Eder H.A., Bragdon J.H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.* 1955; 34:1345-1350.

Heinecke J.W., Baker L., Rosen H., Chait A. Superoxide-mediated modification of low density lipoprotein by arterial smooth cells. *J. Clin. Invest* 1986; 77:757-761.

Henriksen T., Mahoney E.M., Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: Recognition by the receptor for acetylated low density lipoproteins. *Proc. Natl. Acad. USA* 1991; 78:6499-6503.

Hermanson B., Omenn G.S., Kronmal R.A., Gersh B.J. Beneficial six year outcome of smoking cessation in older men and women with coronary artery disease. *N. Eng. J. Med.* 1988; 319:1365-1369.

Hicks M., Delbridge L., Yue D., Reeve T. Catalysis of lipid peroxidation by glucosa and glycosylated collagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988; 151:649-655.

Hiramatsu K., Arimori S. Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes. *Diabetes* 1988; 37:832-837.

Hjermann I., Velve Byre K., Holme I., Leren P. Effect of diet and smoking intervention on the incidence of coronary heart disease. Report from the Oslo Study group of a randomized trial in healthy men. *Lancet* 1981; 2:1303-1310.

Hoffand H.F., O'Neil J.A. Oxidation of LDL: Role in atherogenesis. *Klin Wochenschr* 1991; 69:1032-1038.

Hubert M.B., Feinleib M., McNamara P.M., Castelli W.P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26 year follow up of participants on the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67:968-977.

Hunt J., Smith C., Wolff S. Autooxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 1990; 40:1420-1424.

Ingold K. Inhibition of the autoxidation of organic substances in the liquid phase. *National Research Council.* 1961; 1:563-89.

International Collaborative Study Group. Metabolic epidemiology of plasma cholesterol. Mechanisms of variation of plasma cholesterol within populations and between populations. *Lancet* 1986; 2:991-996.

Ip J.H., Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Taubman M, Chesebro J.H. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J. Am. Cardiol.* 1990; 15:1667-1687.

Ishibashi S., Yamada N., Shimano H. Composition of very-low density lipoproteins in non insulin dependent. *Clin. Chem.* 1989; 35:808-812.

Jackson R.J., Marriett J.D., Gotto A.M.Jr., Lipoprotein structure and metabolism. *Physiol. Rev.* 1976; 56:250-259.

Jajich C.L., Ostfeld A.M., Freeman D.H. Smoking and coronary heart disease mortality in the elderly. *JAMA* 1984; 252:2831-2834.

Janero D.R., Burghardt B. Analysis of cardiac membrane phospholipid peroxidation kinetics as malondialdehyde: nonspecificity of thiobarbituric acid-reactivity. *Lipids* 1988; 23:452-458.

Janero D.R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity a diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidativetissue injury. *Free Radical Biology*. 1990; 9:515-540.

Janero D. Therapeutic potential of vitamin E in the pathogenesis of spontaneous atherosclerosis. *Free Rad. Biol. Med.* 1991; 11:129-144.

Janka H. Dirschedl P. Systolic blood pressure as a predictor for cardiovascular disease in diabetes: a 5 year longitudinal study. *Hypertension* 1985; 7:90-94.

Jessup W., Rankin S.M., De Whwley C.V., Hoult J.R, Scott J., Laeke D.S. Alpha-tocopherol consumption during low density lipoprotein oxidation. *Biochem. J.* 1990; 265:399-405.

Jialal I., Grundy S. Effect of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Lipid. Res.* 1992; 33:899-906.

Jonasson L., Holm J., Skalli O., Bondjers G., Hansson G. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6:131-138.

Jover E. El tabaco como factor de riesgo cardiovascular. En Lipoproteínas y Aterosclerosis. II Simposio Internacional 1987; pp:151-155.

Kaji H., Kurasaki M., Ito K. Increased lipoperoxide value and glutathione peroxidase activity in blood plasma of type 2(non-insulin-dependent) diabetic women. *Klin Wochenschr.* 1985; 63:765-768.

Kenaston C.B., Wilbur K.M. Ottolenghi A., Bernheim F. Comparison of methods for determining fatty acid oxidation produced by ultraviolet irradiation *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 1955; 32:33-35.

Keys A. Coronary heart disease in seven countries. I. The study program and objectives. *Circulation* 1970; 41:1-19.

Kita T., Nagano Y., Yokore M., Ishii K., Ooshima A., Yoshida H., Kawai C. Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an animal model for familial hypercholesterolemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987; 8:5928-5931.

Kita T., Yokode M., Ishii K., Kume N., Nagano Y., Aria H., Otani H., Ueda Y., Hara S. The role of oxidized lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 1992; 20:37-42.

Klimov A., Denisenko A.D., Popov A.V., Nagoernev V.A., Pleskov V., Vinogradov A.G., Denisenko T.V., Magracheva E.Y., Kheifes G.M., Kuznetsov A.S. Lipoprotein-antibody immune complexes: Their catabolism and role in foam cell formation. *Atherosclerosis* 1985; 58:1-15.

Knight J.A., Pieper R.K., McClellan L. Specificity of the thiobarbituric acid reaction: Its use in studies of lipid peroxidation. *Clin. Chem.* 1988; 12:2433-2438.

Kodama T., Freeman M., Rohrer L., Zabrecky J., Matsudaira P., Krieger M. Type I macrophage scavenger receptor contains α -helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343:531-535.

Kosugi H., Kojima T., Kikugawa K. Thiobarbituric acid-reactive substances from peroxidized lipids. *Lipids* 1989; 24:873-881.

Kowal R.C., Herz J., Goldstein J.L. Esser V. Brown M.S. Low density lipoprotein receptor-related protein mediates uptake of cholesteryl esters derived from apoprotein E-enriched lipoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86: 5910-5814.

BIBLIOGRAFIA

Kritchevsky D., Kim H., Tepper S.A. Influence of 4,4'-(Isopropylidenedithio) bis(2,6-di-t-butylphenol) (DH-581) on experimental atherosclerosis in rabbits (35461). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1971; 136:1216-1221.

Kuzuya M., Kuzuya F. Probucol as an antioxidant and antiatherogenic drug. *Free Rad. Biol. Med.* 1993; 14:67-77.

Largilliere C., Melancon S.B. Free malonaldehyde determination in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 1988; 170:123-126.

Lavy A., Brook G.J., Dankner G., Amotz A.B., Aviram M. Enhanced in vitro oxidation of plasma lipoproteins derived from hypercholesterolemic patients. *Metabolism.* 1991; 40:794-799.

Libby P., Hansson G.K. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab. Invest.* 1991; 64:5-15.

Lobtein J. Adaption in veins to increased intravenous pressure with special reference to the portal system and inferior vena cava. *J. Pathol Bacteriol.* 1940; 50:121-136.

Lougheed M., Zhang H., Steinbrecher U.P. Oxidized low density lipoprotein is resistant to cathepsins and accumulates within macrophages. *J. Biol. Chem.* 1991; 266:14519-14525.

Luc G., Fruchart J.C. Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53:206-209.

Lyons T.J. Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabetic Medicine* 1991; 8:411-419.

Mahley R.W., Hui D., Innerarity T.L. Two independent lipoprotein receptors on hepatic membranes of dog, swine and man. *J. Clin. Invest.* 1981; 68:1197-1206.

Mahley R.W. Apolipoprotein E:cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*. 1988; 240:622-630.

Masana LL., Bargalló M., Plana N., LaVille A., Casals I., Solà R. Effectiveness of probucol in reducing plasma low-density lipoprotein cholesterol oxidation in hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol*. 1991; 68:863-867.

Masters C., Holmes R: Peroxisomes: new aspects of cell physiology and biochemistry. *Physiol. Rev*. 1977; 57:816-822.

McKintosh G.L, Reasoner J., Gilbert T., Sunquist K.O., Hokland B., McKernan P.A., Champagne J., Jonhson C.J., Bailey M.C., Holly R., O'Hara P.J. Oram J.F. Cloning and expression of a cellular high density lipoprotein binding protein that is up-regulated by cholesterol loading cells. *J. Biol. Chem* 1992; 267:12131-12135.

Mcnamara J.S., Moot M.A. Stremple J.F. Coronary astery disease in combat casualties in Vietnam. *JAMA* 1971; 216:1185-1187.

Morel D., Hessler J.R., Chilson G.M. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid Res*. 1983; 24:1070-1076.

Morel D.,DiCorleto P., Chisholm G.Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 1984; 4:357-364.

Morel D.,Chilson G.M. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J. Lipid Res*. 1989; 30:1827-1834.

Morel D., Guy M., Chilson G. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J. Lipid Res*. 1989; 30:1827-1834.

Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Multiple risk factor intervention trial: Risk factor changes and mortality results. *JAMA* 1982; 248:1465-1477.

Mullarkey C., Edelstein D., Brownlee M. Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem. Biophys. Res.* 1990; 173:932-939.

Naruszewicz M., Selinger E., Dufour R., Davignon J. Probucol protects lipoprotein (a) against oxidative modification. *Metabolism.* 1992; 41:1225-1228.

Nishigaki I., Hagihara M., Tsunekama H., Maseki M., Yagi K. Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patients. *Biochem. Med.* 1981; 25:373-378.

Oberly L.W., Free radicals and diabetes. *Free Radic. Biol. Med.* 1988; 5:113-124.

Oram J.F., Méndez A.J., Bierman E.L. HDL receptor function in cholesterol transport. En Disorders of HDL metabolism. La Carlson ED. Smith-Gordon 1990; pp:99-104.

Oram J.F., Méndez A.J., Slotte P., Johnson T.F. High density lipoprotein apolipoproteins mediate removal of sterol from intracellular pools but not from plasma membranes of cholesterol-loaded fibroblast. *Arterioscl. Thromb.* 1991; 11:403.

Orekhov A.N., Tertov V.V., Kabakov A.E., Adamova I.Y., Pokrovsky., Sminov V.N. Autoantibodies against modified low density lipoprotein. Nonlipid factor blood plasma that stimulates foam cell formation. *Arterioscl. Thromb.* 1991; 11:316-326.

Palinski W., Rosenfeld M., Ylä-Herttuala S., Gurtner G., Socher S., Butler S., Parthasarathy S., Carew T., Steinberg D., Witztum L. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification "in vivo". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86:1372-1376.

Parthasarathy S., Printz D.J., Boyd D., Joy L., Steinberg D. Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor. *Arteriosclerosis* 1986; 6:505-510.

BIBLIOGRAFIA

Parthasarathy S., Yuong S.G., Witztum J.L., Pittman R.C., Steinberg D. Probucol inhibits oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 1989; 77:641-644.

Parthasarathy S., Khoo J.C., Miller E., Barnett J., Witztum J.L., Steinberg D. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: Implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87:3894-3898.

Parthasarathy S., Steinberg D., Witztum J.L. The role of oxidized low density lipoprotein in the pathogenesis of atherosclerosis. *Annu. Rev. Med.* 1992; 43:219-225.

Pi Sunyer F.X. Health implications of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53:159-160.

Plans P., Taberner J.L., Ruigómez J., Batalla J., Canela J., Pardell H., Salleras LL. ¿ Cuántas personas son candidatas a reducir la concentración sérica de colesterol en la población adulta de Cataluña?. *Clin. Invest. Arteriosclerosis.* 1991; 3:143-148.

Pyörälä K., Laakso M., Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: An epidemiologic view. *Diab. Metabol. rev.* 1987; 3:463-524.

Quinn M.T., Parthasarathy S., Steinberg D.A. Lypophosphatidylecholine: a chemotactic factor for human monocytes and its potential role in atherogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85:2805-2809.

Rajagopalam K.V. Xanthine oxidase and aldehyde oxidase. En: Enzymatic basis of detoxication. Edited by Jakoby W.P., New York . Academic Press 1980; pp: 6:295-304.

Ramírez M.A., Spillman D.M. A rapid method for the determination of thiobarbituric acid reactive substance *J. Food Sci.* 1987; 52:500-501.



Reaven P.D., Parthasarathy S., Beltz W.F., Witztum J. Effect of probucol dosage on plasma lipid and lipoprotein levels and on protection of low density lipoprotein against in vitro oxidation in humans. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:318-324.

Regnström J., Walldius G., Carlson L., Nilsson J. Effect of probucol treatment on the susceptibility of low density lipoprotein isolated from hypercholesterolemic patients to become oxidatively modified in vitro. *Atherosclerosis*. 1990; 82:43-51.

Regnström J., Nilsson J., Tornvall P., Landou C., Hamsten A. Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339:1183-1186.

Rohrer L., Freeman M., Kodama T., Penman M., Krieger M. Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature* 1990; 343:570-572.

Romero-Alvira D., Villalba M.P., Gomez Bellver M.J., Cabeza F., Mur M. Cardiopatía isquémica y radicales libres. *Clin. Invest. Arterioscler*. 1991; 3:20-32.

Rönemaa T., Laakso M., Kallio V., Marniemi J., Puukka P. Serum lipid lipoproteins, and apolipoproteins and the excessive occurrence of coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetic patients. *Am. J. Epidemiology* 1989; 130:632-645.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for 1990s. *Nature* 1993; 362:801-809.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis an update. *N. Eng. J. Med.* 1986; 314:488-500.

Royo T., García Hegart F. Metabolismo del colesterol: control hormonal de la HMG-Co A sintetasa citosólica. *Cli. Inves. Arterioscler*. 1993; 5:11-21.

Sanllehy C., Casals E., Torras R., Felip A., Ballesta A.M., Rosell R. Composición lipoproteica en diabéticos no insulino-dependiente normolipémicos y dislipémicos. *Clin. Invest. Arterioscler.* 1992; 4:103-107.

Sans R.G., Chozas M.G. Historical aspects and applications of barbituric acid derivatives. *Pharmacia* 1988; 43:827-829.

Sato Y., Hotta N., Sakamoto N., Ohiski N., Yagi K. Lipid peroxide levels in plasma of diabetic patients. *Biochem Med.* 1979; 21:104-107.

Schmits G., Nirermann R., Brennhause B., Krauss R.M., Assman G. Regulation of high density lipoprotein binding activity of aortic endothelial cells by treatment with acetylated low density lipoprotein. *Arteriosclerosis* 1985; 5:329.

Schuh J., Fairclough G.F., Hashemeyer R., H. Oxygen-mediated heterogeneity of apo-low-density lipoprotein. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1978; 75:3173-3177.

Seidell J.C., Hautvats J.G., Deurenberg P. Overweight fat distribution and health risks. Epidemiological observations. *Infusionstherapie* 1989; 16:276-81.

Shapiro H., Weinkove C., Coxon A., Kreitzman S., Rodgers M. Three year hospital experience with control of major obesity by VLCD in medically compromised individuals. *Int. J. Obes.* 1989; 13:125-129.

Sichieri R., Everhart J.E., Hubbard V.S. Relative weight classifications in the assessment of underweight and overweight in the United States. *Int. J. Obes.* 1992; 16:303-312.

Siedel J., Schumberger S., Klose J., Ziegenhorn J., Wahlefeld A.W. Improved reagent for the enzymatic determination of serum cholesterol. *J. Clin. Chem. Biochem.* 1981; 19:838-842.

Sjostrom L.V. Mortality of severely obese subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 1992; 55:516-523.

Small D.M. Progression and regression of atherosclerotic lesions. *Insights from Lipid Physical Biochemistry*. 1988; 8:103-129.

Sparrow C.P., Parthasarathy S., Steinberg D.A. Macrophage receptor that recognize oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 1989; 264:2599-2604.

Stary H.C. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis* 1989; 9:19-32.

Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E., Khoo J.C., Witztum J.L. Beyond cholesterol. Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320:915-924.

Steinbrecher U.P., Parthasarathy S., Leake D.s., Witztum J.L., Steinberg D. Modify of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1984; 81:3883-3887.

Stocker R., Bowry V.W., Frei B. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1991; 88:1646-1650.

Tarladgis B.G., Pearson A.M., Dugan L.R. The chemistry of the 2-thiobarbituric acid for the determination of oxidative rancidity in foods. I. Some important side reactions. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 1962; 39:34-39.

The Lipid Research Program. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results. *JAMA* 1984; 251:351-364.

Vilella E., Joven J., Bargalló T., Turner P., Masana LL. Interaction of oxidized low density lipoproteins with both apo B,E and scavenger receptors. A model for its production in vitro. *Clin. Chim. Acta* 1992; 93-108.

Vilella E. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Central de Barcelona, Reus 1990.

Wade C., Van Rij A.M. Plasma malondialdehyde, lipid peroxides, and the thiobarbituric acid reaction. *Clin. Chem.* 1989; 35:336-345.

Wahlefed A.W. Triglycerides. Determination after enzymatic hydrolysis. En: *Enzymatic analysis*. Bergmayer H.U. Acad. Press, New York 1974; pp:1831-1940.

Walton J.R., Parcker L. Free radical damage and protection: Relationship to cellular aging and cancer. En: Machlin T.J. ed. *Vitamin E. A comprehensive treatise in basic and clinical nutrition*. Pergamon Press, New York 1980; pp:495-517.

WHO. Co-operative trial on primary prevention of ischaemic heart disease using clofibrate to lower serum cholesterol-mortality follow-up. *Lancet* 1980; 379-385.

Wissler R.W., Vesselinovitch D. Combined effects of cholestyramine and probucol on regression the atherosclerosis in rhesus monkey aortas. *Appl. Pathol.* 1983; 1:89-96.

Woold N. Morphological changes in Atherosclerosis and the affects of hyperlipidemia on the artery wall. *Atheros. Rev.* 1988; 18:25-48.

World Health Organization. Classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group. *WHO Techn. Rep. Ser.* 1958; 143:1-20.

Yagi K.A. A simple fluorometric analysis for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1976; 15:212-216.

Yamamoto A., Matsuzawa Y., Kishino B., Hayashi R., Hirobe K., Kikkawa T. Effects of probucol on homozygous cases familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1983; 48:157-166.

Yamamoto A., Hara H., Takaichi S., Wakasuj L., Tomikawa M. Effect of probucol on macrophages, leading to regression of xanthomas and atheromatous vascular lesions. *Am. J. Cardiol.* 1988; 62:31-36.

Ylä-Herttuala S., Palinski W., Rosenfeld M., Parthasarathy S., Carew T., Butler S., Witztum J., Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest.* 1989; 84:1086-1095.

Zhang H., Basra H.J., Steinbrecheer U.P. Effects of oxidatively modified LDL on cholesterol esterification in cultured macrophages. *J. Lipid Res.* 1990; 31:1361-1369.

Zimmerman M., Mcgeachie J. The effect of nicotine on aortic endothelium cells turnover. An autoradiographic study. *Atherosclerosis* 1985; 58:39-47.

Zimmerman M., Mcgeachie J. The effect of nicotine on aortic endothelium. A quantitative ultrastructural study. *Atherosclerosis* 1987; 63:33-41.

Zimmet P. Challenges in diabetes epidemiology from West to the rest. *Diabetes Care* 1992; 15:232-252.



