

LIPOPROTEINAS REMANENTES ATEROGENICAS EN HUMANOS

REGINA WIKINSKI, LAURA E. SCHREIER, GABRIELA A. BERG, FERNANDO D. BRITES,
GRACIELA LOPEZ, ANA I. GONZALEZ, VALERIA ZAGO

Instituto de de Fisiopatología y Bioquímica Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires,

Resumen La lipoproteínas remanentes (RLPs) son el producto de la lipólisis de los triglicéridos transportados por las lipoproteínas de baja densidad (VLDL) de origen hepático e intestinal y de los quilomicrones intestinales. Dicha lipólisis es catalizada por la lipoproteína lipasa y se produce en pasos sucesivos, de manera que los productos son heterogéneos. Su concentración plasmática en ayunas es pequeña en pacientes normolipémicos y aumenta en el estado post-prandial. Las alteraciones genéticas en subtipos de su componente Apo-E aumentan notablemente su concentración plasmática y producen el fenotipo de disbetalipoproteinemia. Se las considera aterogénicas porque injurian el endotelio, sufren estrés oxidativo, son captadas por los macrófagos en el subendotelio vascular y generan las células espumosas que son precursoras de ateromas. Su origen metabólico, como productos de varios tipos de lipoproteínas, explican su estructura heterogénea, sus concentraciones plasmáticas variables y las dificultades metodológicas que dificultan su inclusión en el perfil lipoproteico como parte de los estudios epidemiológicos. Los últimos avances en los estudios metabólicos y la actualización de su papel clínico, justifican una revisión de los conocimientos actuales.

Palabras clave: lipoproteínas de densidad intermedia, remanentes de quilomicrones, mecanismos aterogénicos, concentraciones plasmáticas

Abstract *Atherogenic lipoprotein remnants in humans.* Remnant lipoproteins (RLPs) are the lipolytic product of triglycerides transported by very low density lipoproteins (VLDL) of hepatic and intestinal origin and intestinal chylomicrons. Lipoprotein lipase activity hydrolyse triglycerides in several steps, producing heterogeneous particles. Fasting plasma concentration in normolipidemic subjects is low, but it increases in post-prandial states. Genetic alterations in Apo-E subtypes increases RLPs plasma concentration and produce dyslipoproteinemia phenotype. RLPs atherogenicity depends on their role as endothelial injuring factors, their impaired recognition by lipoprotein receptors, and their susceptibility to oxidative stress. They also promote the circulation of molecular adhesion molecules, the internalization in subendothelial macrophages via scavenger receptors and the accumulation in foam cells, all of them early mechanisms of atheromatosis. RLPs metabolism has been a subject of controversial studies. Their origin from different lipoproteins may explain their structural heterogeneity, therefore increasing the methodological difficulties to include RLPs in the atherogenic lipoprotein profile in the epidemiological studies of the field. Last advances on metabolism of RLPs and their emergent clinical role justifies an up dated revision of RLPs.

Key words: intermediate density lipoproteins, chylomicron remnants, atherogenic mechanisms, plasma concentration

Las lipoproteínas remanentes son los productos del catabolismo de las lipoproteínas de baja densidad (VLDL) y de los quilomicrones. La actividad de la lipoproteína lipasa degrada los triglicéridos de las lipoproteínas precursoras, disminuye su tamaño y aumenta proporcionalmente su contenido en colesterol. Este proceso produce partículas de composición variable, que pueden atrave-

sar el endotelio vascular, siendo captadas por monocitos-macróforos y formando células espumosas donde el colesterol se deposita sin mecanismos de retrocontrol. Su catabolismo depende de la actividad de la lipasa hepática y de su captación por receptores que reconocen apo E, que es uno de sus componentes. Normalmente, su concentración plasmática en ayunas es muy baja, de alrededor de 6 mg de colesterol transportado por RLps / dl de plasma pero aumenta en condiciones postprandiales. Sin embargo, en mujeres posmenopáusicas y en diversas condiciones patológicas como la diabetes mellitus de tipo 2, el hipotiroidismo y la insuficiencia renal crónica, su tiempo de residencia en plasma es mayor porque aumenta de 6 horas a 24 horas, de manera que

Recibido: 3-VIII-2009

Aceptado: 1-III-2010

Dirección postal: Dra. Regina Wikinski, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 1113 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 5950-8691 e-mail: rwikinski@fibertel.com.ar

aun en ayunas, su concentración plasmática es superior a la normal. Se ha comprobado que para estas partículas se cumple un mecanismo sensible a procesos redox, lo cual contribuye a caracterizarlas como aterotrombogénicas. El modelo genético en humanos es la disbetalipoproteinemia o hiperlipemia de tipo III, que es la acumulación de RLPs en el plasma de pacientes que presentan los dos alelos de Apo E del subtipo E2/E2. En ese caso la concentración plasmática de colesterol-RLPs supera en más de 6 veces su valor normal y los pacientes tienen un riesgo aumentado respecto de enfermedades cardiovasculares. La metodología aceptada para su medida fue la ultracentrifugación diferencial para separar la fracción lipoproteica que flota entre las densidades 1.006 y 1.019 g/ml de buffer. Posteriormente aparecieron varias técnicas que se utilizaron para su determinación en estados fisiológicos y patológicos, hasta que en los últimos años se generalizó el empleo de la técnica inmunoquímica¹⁵ que se detalla en este artículo.

Origen y catabolismo en ayunas y pos-prandiales

Origen metabólico

Las lipoproteínas remanentes son el producto de la lipólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (TG), las VLDL de origen hepático son precursoras de IDL, y los quilomicrones de origen intestinal, de los denominados Remanentes de quilomicrones (RQ). En conjunto se las denomina lipoproteínas remanentes (RLPs). Cada partícula contiene una sola copia de Apo-B, de modo que las IDL y los RQ contienen ApoB-100 y Apo B-48, respectivamente. Ambas lipoproteínas precursoras son degradadas por hidrólisis de los TG en plasma por la lipoproteína lipasa (LPL) que es una triglicérido hidrolasa con cierta actividad de fosfolipasa. Esta lipasa se sintetiza en adipocitos y miocitos, actúa en el endotelio de los capilares sanguíneos y se une a las lipoproteínas ricas en TG a través de puentes de proteoglicanos con heparán sulfato y de la apolipoproteína C-II (Apo C-II), que es un componente de VLDL y quilomicrones.

El heparán sulfato es un polisacárido complejo que provee sitios de anclaje para numerosas enzimas. Los puentes están constituidos por tractos relativamente pequeños de polímeros de disacáridos de ácido urónico y glucosamina sulfatada en diversos grados, con arreglos específicos. De la misma manera, los remanentes mencionados se unen a la lipasa hepática en los sinusoides hepáticos¹. Por otro lado, la Apolipoproteína C-III que es transportada por VLDL y quilomicrones, inhibe la actividad de LPL cuando el contenido de Apo C-II en la partícula disminuye sustancialmente.

En ayunas, la IDL es la lipoproteína remanente que se encuentra habitualmente en plasma, aunque en con-

diciones normales sus concentraciones son bajas. En condiciones pos-prandiales, los RQ aumentan en plasma porque los quilomicrones precursores plasmáticos se incrementan a partir de su síntesis en los enterocitos, su salida a los vasos linfáticos y su pasaje a los vasos sanguíneos donde los TG que contienen se degradan por la LPL. Dado que las VLDL siguen sintetizándose en el hígado, las IDL y los RQ circulantes se incrementan en la etapa posprandial hasta 4 a 6 horas después de la ingesta, formando un conglomerado de partículas que poseen menos TG que sus precursoras, pierden Apo C-II, conservan Apo C-III y adquieren Apo- E procedentes de las HDL circulantes y de tejidos periféricos. Ese conglomerado de partículas pos-prandiales tiene movilidad beta-VLDL cuando se separan por electroforesis en gel de agarosa y así se los denomina cuando se los trata en conjunto, ya sea para identificarlos por su composición química, como para medirlos sin previa separación entre ambos. Es de notar que la proporción de colesterol aumenta porque disminuyen los TG, por lo cual estas lipoproteínas pasan a ser consideradas lipoproteínas ricas en colesterol, de menor tamaño, lo cual, de acuerdo al concepto clásico, las ubica entre las lipoproteínas aterogénicas. Ambas partículas constituyen un conglomerado que no es fácilmente separable y por lo tanto pueden ser tratadas en conjunto como lipoproteínas remanentes (RLPs).

En el proceso de degradación de VLDL a IDL, la hidrólisis de los TG libera ácidos grasos y las partículas resultantes de IDL contienen menor porcentaje de TG y fosfolípidos y la misma magnitud de colesterol. Son partículas más heterogéneas, porque la LPL continúa catalizando la degradación de TG y produciendo ácidos grasos libres y glicerol, en tanto esté ligada a la VLDL por la Apo C-II. El final de esta degradación se produce cuando queda muy poca Apo C-II y se inhibe por efecto de Apo C-III. De este modo, la relación Apo C-II/Apo C-III modula este proceso y las partículas de IDL resultantes tienen una característica común, que es la presencia de una sola copia de Apo B-100, pero cantidades variables de TG y colesterol esterificado. La relación media de TG/colesterol es aproximadamente igual a 1, pero aumenta en la hipertrigliceridemia. Puede considerarse que el proceso de formación de IDL finalizó cuando se ha desprendido el resto de Apo C-II. En uno de los primeros trabajos sobre RLP pos-prandiales, Wikinski y col.² demostraron que se encontraban RLPs en el plasma de pacientes diabéticas tipo 2 a las 2, 6 y 8 horas luego de una comida mixta de 1000 calorías estandarizada por los médicos nutricionistas del Hospital Universitario de la Universidad Central de Venezuela. El aumento de RLPs se prolongaba hasta la muestra tomada en ayunas al día siguiente. Cuando las pacientes alcanzaban el buen control de su diabetes, el tiempo de residencia en plasma no se diferenciaba de las controles.

RLPs pos-prandiales fueron estudiadas por el grupo de Ooi y col.³ en pacientes hipertriglicéridémicos y comprobaron que la concentración de RLPs está aumentada en comparación con normolipémicos. La lipemia pos-prandial debida a RLPs es proporcional a la concentración de TG y RLPs en ayunas y a Apo B-48, pero no a Apo B-100-VLDL, de modo que los TG serían de origen intestinal y no hepáticos. También mostraron que las moléculas de RLPs presentaban altos porcentajes de triglicéridos en los pacientes con triglicéridemia alta y HDL baja.

Catabolismo

El incremento de RLPs en plasma es objeto de estudios y controversias. Se conocen pasos fundamentales de su catabolismo, como la hidrólisis por la lipasa hepática, cuya actividad es inversamente proporcional a la concentración plasmática de RLPs. Los proteoglicanos intervienen en la captura y degradación hepática de RLPs, sin embargo quedan incógnitas para resolver, lo cual es de gran importancia porque estas partículas son altamente aterogénicas y su acumulación es riesgosa⁴. En principio se postuló que el receptor de LDL, que reconoce componentes de remanentes como Apo B-100 y Apo-E, podría ser el receptor implicado en el catabolismo de RLPs. Sin embargo, se especula acerca de la existencia de un receptor putativo independiente para las lipoproteínas remanentes, que reconozca principalmente Apo E, diferente del receptor de LDL. Se postulan otras dos clases de receptores, el LRP1 y la proteína *scavenger* relacionada con el receptor de LDL denominada LPRS, que internaliza y capta remanentes sin limitaciones de tipo *feed-back*. Sin embargo, en animales en condiciones fisiológicas, la inactivación de los receptores tipo LRP1 o LPRS no resultó en la acumulación de remanentes. Se trató de probar si el receptor es heparán sulfato unido a una superficie celular, dado que resulta indispensable para captar remanentes, por sí sólo o unido a LPR. Su capacidad para unirse con los tres tipos de partículas (remanentes que contienen Apo-E, LPL y Lipasa Hepática) lo presenta como un buen candidato que facilitaría la internalización de RLPs.

Un aspecto novedoso estudiado en modelos de ratones transgénicos que expresan altos niveles de Lp(a), similares a los que se encuentran en humanos con Lp(a) elevada, es la interacción entre Lp(a), específicamente el Kringler IV(5-8), y el hígado a través de ese dominio superficial que interfiere quizás con la actividad de receptores de RLPs, aumentando la concentración de colesterol-RLPs y su tiempo de residencia en plasma, con el consiguiente efecto aterogénico. Es de notar que la aterogenicidad de Lp(a), de acuerdo a estudios observacionales no se discute, señalándose especialmente las moléculas pequeñas que se encuentran en los pacientes que presentan concentraciones plasmáticas elevadas. Sin embargo, los mecanismos subyacentes no

se conocían, a pesar de los estudios clínicos anteriores y de diversas hipótesis acerca de su internalización en la pared arterial. El efecto que se describe contribuye a explicar experimentalmente la aterogenicidad de LP(a), a través de RLPs, porque los ratones presentan un aumento de 2 a 4 veces la concentración de colesterol-RLPs en plasma y un incremento de hasta 20 veces del área ateromatosa en la raíz de la aorta⁵.

Aspectos genéticos: Disbetalipoproteinemia o HL tipo III. Un modelo de acumulación

Fredrickson y col.⁶ la describieron en su clasificación de dislipoproteinemias primarias. Las características clínicas de los pacientes se pueden resumir en tres puntos: generalmente aparece en adultos jóvenes, suelen presentar xantomas amarillentos en las palmas de las manos y no siempre expresan dislipidemias manifiestas. La acumulación de RLPs es característica de este tipo de dislipemia, denominada disbetalipoproteinemia por el grupo de Fredrickson, porque en el lipidograma en papel con buffer conteniendo albúmina, que fue el método patrón para clasificar las dislipoproteinemias, se observa una banda ancha en la zona beta, que indica su heterogeneidad. Las bases moleculares de esta dislipemia están ligadas a isoformas de Apo E. La Apo E se produce en hígado, cerebro, bazo, pulmones, adrenales, ovarios riñón y músculo y constituye el 20% de las proteínas de remanentes de VLDL y quilomicrones y el 2% en la partícula de HDL. Puede reemplazar *in vivo* una forma disfuncional de Apo B que aparece en la a-betalipoproteinemia. El gen de Apo E se encuentra en el cromosoma 19q13:2 en un cluster con Apo C-I y Apo C-II. Como sintetiza Schaefer JR⁷ en un editorial reciente donde revisa las principales características de apo E, la disbetalipoproteinemia es una dislipemia pobremente entendida, a pesar de las décadas transcurridas desde la publicación del trabajo pionero de Utermann y col.⁸, quienes describieron por primera vez en 1977 una forma poco común de Apo E. Los homocigotas E2/E2 poseían un factor crucial para la expresión de la disbetalipo-proteinemia.

Las primeras observaciones de esta dislipemia atribuyeron la falla a la presencia de Apo-E2 en ambos alelos de Apo E, lo cual impedía su unión a los receptores LDL que también reconocen Apo E. Los cambios de aminoácidos arginina y cisteína en posiciones 112 y 158 producen modificaciones en la afinidad de los RLP por el receptor de LDL, en los niveles de colesterol plasmático de los portadores, y de su riesgo coronario. El alelo Apo E-2 en posiciones 112 y 158 tiene 2 residuos de cisteína, Apo E-3, que se encuentra en 60-80% de caucásicos, tiene un residuo de cisteína en posición 112 y una arginina en 158. El alelo Apo E-4 tiene dos argininas, una en posición 112 y otra en 158. En comparación con Apo E-3,

Apo E-2 tiene afinidad reducida por el LDLR y en cambio apo E-4 la tiene aumentada. Sin embargo, los portadores de Apo E-4 presentan mayor riesgo de enfermedad coronaria y de enfermedad de Alzheimer prematura, lo cual agrega interés biomédico a esta forma de Apo E. El riesgo coronario menor es de los portadores de Apo E-3, y los homocigotas para Apo E-2 son genéticamente proclives a sufrir disbetalipoproteinemia o HL tipo III, que se caracteriza por presentar hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia moderadas, muchas veces con una relación TG/colesterol semejante a 1. Es necesario que los homocigotas APO E2/E2 sean diabéticos, obesos, hipotiroideos, mujeres post-menopáusicas, entre otras condiciones, para que se exprese la disbetalipoproteinemia, pero la causa primaria molecular es la condición genética ya mencionada. Las VLDL que presentan una relación de colesterol/TG > 0.3 son semejantes a RLPs y usualmente se las denomina VLDLs ricas en colesterol. Su catabolismo es diferente del de las VLDL típicas porque presentan menor afinidad por LPL⁹.

Esta condición explicaría la falta de aumento de LDL, dado que las VLDLs ricas en colesterol no son buenas precursoras de LDL, lo cual inhibiría la conversión de VLDL a LDL. Por otro lado, Apo E2/E2 no tiene afinidad por los receptores de LDL, que en cambio reconocen los otros alelos, conduciendo a un mayor catabolismo de LDL. Es de notar que la mayoría de las dislipemias aterogénicas son multifactoriales, por lo cual se han buscado otros defectos genéticos en pacientes con HL tipo III, dado que sólo el 10% de la población presenta esta isoforma de Apo E, lo cual ha hecho necesarios otros estudios para buscar más factores que expliquen la HL tipo III¹⁰. Al respecto Henneman y cols estudiaron 165 pacientes Apo E2/E2, 52 de los cuales eran normolipidémicos y encontraron tres tipos de asociaciones en los hiperlipidémicos: dos polimorfismos APOC3 (3238 G > C), y APOA5 (1131 T > C) fueron significativamente más altos en hiperlipidémicos, en tanto que el polimorfismo de LPL (c.27 G > A) contribuyó en menor grado, (el *Odd ratio* de hiperlipidémicos vs. normolipidémicos fue 3.7; P < 0.0001). No se encontraron polimorfismos en lipasa hepática. Podríamos interpretar que el aumento de RLP en diabéticos e hipotiroideos no es atribuible a alteraciones genéticas de lipasa hepática, sino a su regulación endocrina por insulina y hormonas tiroideas.

Al respecto es interesante tener en cuenta los conceptos de Kraft y Hunter¹¹ quienes reconocen que menos de 20 loci están comprobados en diabetes mellitus y que harían falta muchos más para explicar los múltiples aspectos de este síndrome.

Metodología para la evaluación de RLPs

Ensayos cualitativos: El método de Wieland y Seidel¹² consiste en una electroforesis en gel de agarosa y una

incubación posterior durante 2 h con una solución de MgCl₂ 0.1 mol/l, heparina 1.5 g/l, y NaCl 10 g/l que conduce a la inmovilización de los QR y VLDL-R que conforman RLPs, y se visualizan como una banda ancha de beta-VLDL. La técnica es simple y permite detectar cantidades elevadas de RLPs, compatibles con la HL tipo III. Sin embargo, no constituye una prueba que certifique la disbetalipoproteinemia primaria.

Ensayos cuantitativos: Se destacan dos métodos electroforéticos y uno inmunoquímico.

El primero de Wikinski, Schreier y Rosental¹³ consiste en la electroforesis en gel de agarosa de suero entero, que separa quilomicrones en el origen, una banda ancha que comprende la zona entre el origen y la beta, donde también quedan las beta lipoproteínas (LDL). La zona alfa es ocupada por las HDL. Para separar los RLPs de la LDL, se realiza una incubación con la solución de Wieland y Seidel¹², que inmoviliza los remanentes porque neutraliza su carga eléctrica, y en una segunda electroforesis se separan las LDL que conservaron su carga negativa. La banda de RLPs se visualiza, se recupera y se usa para extraer y medir el colesterol con reactivo férrico. La medida de colesterol de RLPs separados por este método se comparó con la medida del colesterol de IDL y beta-VLDL separadas por ultracentrifugación a densidad hidratada 1.006-1.019 g/ml y correlacionó significativamente, r = 0.96 (P < 0.001). Los valores de referencia en individuos normales fueron 5.7 ± 7.0 mg/dl. Siete pacientes con fenotipos de HL tipo III presentaron las concentraciones más altas de colesterol-RLPs de 162 ± 345 mg/dl. Se encontró aumento moderado de RLPs en pacientes diabéticos de tipos I y II. Este método puede implementarse en todo laboratorio clínico donde se realicen lipidogramas en gel de agarosa.

El método de separación de lipoproteínas en gel de poliacrilamida no desnaturante de Blom y col.¹⁴, es útil para tamizaje de HL tipo III. El suero preteñido con Sudan Black se siembra en un gel en gradiente de 2 a 8% a 4 °C. Luego de 8-12 horas de electroforesis, se puede inspeccionar visualmente y ver las VLDL pequeñas + IDL con una sensibilidad de 72% y una alta especificidad de 95%. La videodensitometría revela disbetalipoproteinemia con 100% de especificidad, midiendo el área bajo la curva que distingue las VLDL grandes de las pequeñas, IDL elevadas y LDL disminuidas con relación IDL/LDL > 0.5.

El método inmunoquímico de Campos, Nakajima y cols¹⁵ se fundamenta en que los RLPs enriquecidos en Apo E, que no contienen Apo C ni Apo B-48, no precipitan con anticuerpos monoclonales anti Apo B-100 y anti Apo A-1, los cuales están incorporados a una columna con sefarosa que luego se eluye para liberar las lipoproteínas no unidas. En el eluato se mide preferentemente colesterol. El anticuerpo anti Apo B-100 utilizado es único porque no reconoce Apo B en RLPs y sólo se

une con Apo B-100-LDL o Apo B-100-VLDL. Está patentado en Japón (Japan Immunoresearch Laboratories) y actualmente es el método cuantitativo de elección. Los valores de colesterol-RLPs son similares a los obtenidos por el método de Wikinski y col. ya citado.

Características generales que explican su aterogenicidad

Es de notar que la concentración en sangre de estas lipoproteínas es baja en ayunas y aumenta en estado post-prandial, pero no alcanza a superar el nivel de LDL. Sin embargo, la estructura de RLPs y su captación independiente del receptor regulable de LDL, les dan ese carácter aterogénico que no está directamente relacionado con su concentración plasmática. Más aún, el modelo de disbetalipoproteinemia, que aumenta considerablemente la concentración en sangre de RLPs, es el paradigma de la aterogenicidad de los remanentes porque se potencian la concentración elevada y su estructura típica donde sobresale su heterogeneidad y la falta de reconocimiento por receptores.

RLPs son consideradas aterogénicas porque se internalizan en macrófagos a través de receptores *scavenger*, sin limitaciones de la cantidad captada. Este proceso convierte a los macrófagos en células espumosas. El contenido en colesterol de estas partículas es proporcionalmente mayor que en las VLDL y los quilomicrones precursores, lo cual favorece el depósito de colesterol en el subendotelio e inicia el fenómeno subendotelial que dará lugar a la placa ateromatosa.

Su susceptibilidad a la oxidación mediada por mecanismos subendoteliales está íntimamente relacionada con procesos aterogénicos. En el caso de RLPs se ha comprobado que un mecanismo sensible a procesos redox se cumple para estas partículas, caracterizándolas como aterotrombogénicas¹⁶. Este estudio demostró que RLPs aumentaban la expresión de mRNA de las moléculas de adhesión SICAM-1 y VCAM-1 en células endoteliales, que son responsables del reclutamiento de monocitos en la pared arterial y del factor tisular, que es esencial para la promoción de eventos trombóticos subendoteliales. Estas reacciones se produjeron a concentraciones de colesterol-RLPs de 5 a 50 mg/dl, semejantes a las que se encuentran en el plasma periférico de pacientes con enfermedad arterial coronaria. Estudios *in vitro* revelaron que RLP liberaban ICAM-1 y VCAM-1 al medio de cultivo de células endoteliales, un efecto paralelo al aumento de las mismas moléculas de adhesión en su forma soluble en el plasma de pacientes con concentraciones elevadas de RLP en comparación con los que presentan concentraciones plasmáticas bajas, lo cual sugiere que la fuente de las moléculas de adhesión es el endotelio vascular activado.

También se comprobó que RLPs aumentaban el estrés oxidativo en cultivos celulares y que el agregado de Alfa tocoferol inhibía este proceso. En concordancia, pacientes pre-tratados con alfa tocoferol no mostraron aumento de moléculas de adhesión en presencia de altas concentraciones de RLP. El mecanismo aterogénico propuesto es el aumento de liberación de moléculas de adhesión y retención de monocitos en el subendotelio por efecto de RLPs, que aportan ácidos grasos poli-insaturados, promueven el estrés oxidativo y la trombogénesis a través del factor tisular, configurando una cadena de interacciones aterotrombogénicas¹⁶.

Los resultados expuestos refuerzan el concepto de que los RLPs, que aumentan en la hipertrigliceridemia, tienen un papel activo como factor de riesgo, por lo cual no está claro si son los TG elevados *per se* o también RLPs los que participan en estos mecanismos.

Estudios clínicos y epidemiológicos (Tabla 1)

Pocos estudios epidemiológicos incluyen la medida de RLPs en su diseño, posiblemente por las dificultades metodológicas, pero éstas fueron salvadas por los distintos métodos descritos previamente. Mediante el método de Wikinski¹³, que se utilizó en estudios clínicos, se encontró aumento de RLPs en diabetes mellitus tipo II, mujeres postmenopáusicas^{17,18}, mujeres en transición a la menopausia¹⁹, pacientes hemodializados y resistentes a insulina^{20,21,22}. Los métodos de Blom y col.¹⁴ y finalmente Campos y col.¹⁵ avanzaron en las técnicas generando procedimientos aptos para la elaboración de reactivos comerciales. El método inmunoquímico de Campos y col. permitió realizar estudios dirigidos a evaluar el papel aterotrombogénico de RLPs en el *Honolulu*

TABLA 1.- Concentraciones plasmáticas de colesterol-RLPs/dL en ayunas

Condición	Media	Percentilo 95	Referencia
Normolipemia	5.7	12.5	13
Normolipemia	7.2	12.5	15
Hipertrigliceridemia	17.0	33.5	24
ERC hemodializados	10		21
Mujeres PM	33.6		18
Mujeres transición			
Menopausia	12.2		19
HFC	18.6	31.1	24

ERC: Enfermedad renal crónica, Mujeres PM: Mujeres postmenopáusicas, HFC: hiperlipemia familiar combinada.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de pacientes normolipémicos determinados por los métodos de Wikinski y col.² y los informados por Campos y col.¹⁵

*Heart Study*²³. Sus conclusiones fueron que en pacientes hipertriglicéridémicos, tanto RLPs como los TG son factores de riesgo independiente, pero luego de ajustar estadísticamente los resultados por ambos parámetros se concluyó que basta con medir uno de ellos, con toda lógica, bastaría con medir TG en este grupo de pacientes. Sin embargo, en los grupos aparentemente normolipémicos, como los pacientes hemodializados, se comprobó el aumento de IDL y modestos incrementos de TG y Apo C-III, sin que colesterol-LDL estuviera aumentado²¹. Esto resalta el papel aterogénico de RLPs y explica la alta morbimortalidad cardiovascular de estos pacientes.

Brevemente, las características estructurales de RLPs se deben a que son productos relativamente fugaces del catabolismo de sus precursoras, las lipoproteínas ricas en TG. Su heterogeneidad se manifiesta en el lipidograma electroforético en gel de agarosa, donde se separan del origen, donde quedan los quilomicrones, y se puede observar una banda ancha que revela sus cargas eléctricas variables. Contienen cantidades equivalentes de TG y colesterol esterificado, Apo B-100 en IDL y Apo B-48 en RQ. En estas partículas el porcentaje de Apo E en sus diferentes isoformas es de alrededor de 20% de las proteínas, no contienen Apo C-II y suelen conservar Apo C-III. Su contenido en TG o en colesterol difiere de acuerdo al perfil plasmático de las demás lipoproteínas, de la actividad de la enzima LPL que cataboliza a sus precursoras, de la lipasa hepática que degrada ambos RLPs y los niveles de LP(a), que interfieren en su catabolismo. En pacientes hipertriglicéridémicos, son ricas en triglicéridos, en normotriglicéridemia la relación TG/colesterol es alrededor de 1, y su influencia en los niveles plasmáticos de ambos lípidos es pequeña en condiciones normales. En cambio, en condiciones post-prandiales y en pacientes con HL tipo III, el colesterol-RLPs es mayor que el colesterol-LDL y por lo tanto no se puede realizar el cálculo de este último según la ecuación de Friedewald porque estima ambas fracciones en conjunto.

Agradecimientos: Los estudios de los autores fueron realizados con subsidios de la Universidad de Buenos Aires, la Universidad Central de Venezuela, el Consejo Nacional de Investigaciones de Venezuela (CONICIT), CONICET y ANPCYT.

Conflictos de Interés: Ninguno que declarar.

Bibliografía

1. Esko JD, Selleck SB. Order out of chaos: Assembly of Ligand Binding Sites in Heparan Sulfate. *Annu Rev Biochem* 2002; 71: 435-71
2. Wikinski RL, Morocoima Z, Camejo M, et al. Pre- and post prandial plasma levels of intermediate density lipoproteins in type 2 diabetic female patients. *Medicina (Buenos Aires)* 1986; 46: 51-8.
3. Ooi TC, Cousins M, Ooi DS, et al. Postprandial Remnant-like Lipoproteins in Hypertriglyceridemia. *J Clin Endocr Metabol* 2001; 86: 3134-42.
4. Mahley RW, Huang Y. Atherogenic remnant lipoproteins: role for proteoglycans in trapping, transferring, and internalizing. *J Clin Invest* 2007; 117: 94-98.
5. Devlin CM, Lee SJ, Kuriakose G, et al. An apolipoprotein(a) peptide delays chylomicron remnant clearance and increases plasma remnant lipoproteins and atherosclerosis in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1704-11.
6. Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS. Fat transport in lipoproteins: an integrated approach to mechanisms and disorders. *N Engl J Med* 1967; 276: 34-43, 94-103, 148-56, 215-25, 273-81.
7. Schaefer JR. Unraveling hyperlipidemia type III (dysbeta-lipoproteinemia), slowly. *Eur J Human Gen* 2009; 17: 541-2.
8. Utermann G, Hees M, Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinemia in man. *Nature* 1977; 269: 604-7.
9. Schreier L, Berg G, Zago V, Gonzalez AI, Wikinski R. Kinetics of in vitro lipolysis of human very low density lipoprotein by lipoprotein lipase. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002; 12: 13-8.
10. Henneman P, Van den Sman-de Beer F, Moghaddam PH, et al. The expression of type III hyperlipoproteinemia, involvement of lipolysis genes. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 620-8.
11. Kraft P, Hunter DJ. Genetic risk prediction- Are we there yet? *N Engl J Med* 2009; 360: 1701-3.
12. Wieland H, Seidel D. Improved techniques for assessment of serum lipoprotein patterns. II Rapid method for diagnosis of type III hyperlipoproteinemia without ultracentrifugation. *Clin Chem* 1973; 19: 1139-41.
13. Wikinski RL, Schreier LE, Rosental SB. New method for isolating and quantifying intermediate and beta-very-low-density lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1991; 11: 1913-6.
14. Blom DJ, Byrnes P, Jones S, Marais AD. Non-denaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the diagnosis of dysbetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 2003; 44: 212-7.
15. Campos E, Nakajima K, Tanaka A, Havel RJ. Properties of an apolipoprotein E enriched fraction of triglyceride rich lipoproteins isolated from human blood plasma with a monoclonal antibody to apolipoprotein B-100. *J Lipid Res* 1992; 33: 369-80.
16. Doi H, Kugiyama K, Oka H, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation* 2000; 102: 670-6.
17. Berg G, Halperin H, Siseles N, Wikinski R. Very low density lipoproteins and subclasses of intermediate density lipoproteins in postmenopausal women. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56: 479-86.
18. Berg GA, Siseles N, González AI, Ortiz OC, Tempone A, Wikinski R. Higher values of hepatic lipase activity in postmenopause: relationship with atherogenic intermediate density and low density lipoproteins. *Menopause* 2001; 8: 51-7.
19. Berg G, Mesch V, Boero L, et al. Lipid and lipoprotein profile in menopausal transition. Effects of hormones, age and fat distribution. *Horm Metab Res* 2004; 36: 215-20.
20. Shoji T, Ishimura E, Inaba M, Tabata T, Nishizawa Y. Atherogenic lipoproteins in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: S30-S33.
21. González AI, Schreier L, Elbert A, et al. Lipoprotein alterations in hemodialysis: differences between diabetic and non-diabetic patients. *Metabolism* 2003; 52: 116-121.
22. Paglione A M, Ferrari N, Berg G, et al. Lipodistrofia parcial adquirida, resistencia insulínica, actividad lipasa hepática y partículas LDL pequeñas y densas. *Medicina (Buenos Aires)* 2001; 61:81-4.
23. Imke C, Rodríguez BL, Grove JS, et al. Are remnant-like particles independent predictors of coronary heart disease incidence? The Honolulu Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1718-22.
24. Twickler T, Dallinga-Thie GM, Chapman MJ, Cohn JS. Remnant lipoproteins and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2005; 7: 140-7.