

PREVALENCIA DE LDL PEQUEÑAS Y DENSAS ESTIMADAS MEDIANTE LA RELACIÓN C-LDL/APOB Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA POBLACIÓN QUE CONCORRE AL SERVICIO DE LABORATORIO DEL NUEVO HOSPITAL SAN ANTONIO DE PADUA EN LA CIUDAD DE RÍO CUARTO

Morillas JA¹; Perrota PR²; Amedey AL³; Portela ND⁴

RESUMEN

Introducción: Las partículas de lipoproteínas de baja densidad son heterogéneas respecto a su tamaño y aterogenicidad, siendo las LDL pequeñas y densas (LDLpd) las de mayor potencial aterogénico. La presencia de estas partículas puede ser estimada mediante la relación c-LDL/ApoB por un valor menor a 1,20 se asocia a la presencia de las mismas. El objetivo de este trabajo es estimar la prevalencia de LDLpd mediante la relación c-LDL/ApoB en la población que acude al “Nuevo Hospital de Río Cuarto” y relacionarla con diferentes factores de riesgo cardiovascular. **Materiales y Métodos:** 93 pacientes fueron evaluados tanto clínicamente como bioquímicamente, se determinaron diferentes parámetros incluyendo perfil lipídico y ApoB para el cálculo de la relación c-LDL/ApoB. **Resultados:** La prevalencia de LDLpd fue 59,14%, valor 3 veces superior a la prevalencia de las distintas dislipemias. Se encontraron diferencias significativas de tamaño de partículas entre la población tabaquista y sedentaria. La relación c-LDL/ApoB se correlacionó con edad, glucemia, c-HDL, c-LDL, triglicéridos, HbA1c y score de Framingham. **Conclusiones:** Se demostró una alta prevalencia de LDLpd en la población bajo estudio y una subestimación del riesgo cardiovascular si solo se evalúa a los pacientes utilizando el perfil lipídico tradicional. Se observó que la HbA1c y el tabaquismo son los factores de riesgo que mejor predicen la presencia de estas partículas.

Palabras Clave: Perfil lipídico; Riesgo Cardiovascular; Apolipoproteína B100; LDL pequeña y densa. relación c-LDL/ApoB.

¹Licenciado en Bioquímica. Servicio de laboratorio, Sección Química Clínica- Nuevo Hospital San Antonio de Padua - Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

²Dr. en Ciencias Químicas - Servicio de laboratorio, Sección Química Clínica- Nuevo Hospital San Antonio de Padua - Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

³Bioquímica. Jefa de Servicio de laboratorio- Nuevo Hospital San Antonio de Padua - Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

⁴Bioquímico Especialista en Química Clínica- Departamento de Diagnóstico Molecular, LACE Laboratorios – Córdoba, Argentina.

✉ Joaquín Alberto Morillas
joaquinmorillasarce@gmail.com

BIOQUINFORMA DIGITAL

Publicación on-line del Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Córdoba (ISSN: 2344-9926)

BIOQUINFORMA DIGITAL 1/2020.

INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas se ha utilizado el perfil lipídico como marcador de riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV). El mismo abarca la determinación de colesterol total (Ct), colesterol de alta densidad (c-HDL), colesterol de baja densidad (c-LDL) y triglicéridos (Tg). Estos parámetros bioquímicos no proveen información sobre la heterogeneidad y aterogenicidad de las partículas que transportan colesterol.

La aterosclerosis es una de las principales causas de enfermedad cardiovascular, estudios poblacionales han demostrado que los niveles circulantes de c-LDL y Apolipoproteína B (ApoB) están directamente asociados al riesgo de padecer ECV. De hecho, la infiltración y retención de lipoproteínas que poseen ApoB en las paredes arteriales es un evento crítico que inicia el proceso inflamatorio y el desarrollo de aterosclerosis^{1,2}. Por otro lado, la terapia de reducción de los niveles de colesterol es utilizada en la práctica clínica para disminuir el riesgo de ECV^{3,4}. Sin embargo, la reducción del riesgo lograda en estudios clínicos no ha sido mayor al 30%⁵, es por esto que se han planteado algunas discrepancias relacionadas con el valor real y absoluto de la concentración de c-LDL como predictor independiente de ECV⁶. Además, diversos estudios afirman que el análisis de las subfracciones de lipoproteínas otorga mejor información para evaluar el riesgo cardiovascular que la determinación de la concentración de colesterol presente en las lipoproteínas plasmáticas^{7,8,9}. Las partículas de LDL son heterogéneas con respecto a su tamaño, densidad y composición lipídica¹⁰. Cuatro subclases de LDL han sido identificadas según su tamaño y densidad, LDL-I (Grandes y boyantes, δ : 1,019-1,023 g/ml, diámetro: 26,0–28,5 nm), LDL-II (intermedias, δ : 1,024-1,034 g/ml, diámetro: 25,5–26,4 nm), LDL-III (pequeñas y densas, δ : 1,034-1,044 g/ml, diámetro: 24,2–25,5 nm), y LDL-IV (muy pequeñas y densas 1,044-1,060 g/ml, diámetro: 22,0–24,1 nm)^{11,12}. De esta clasificación se obtienen dos fenotipos de perfil lipídico: el fenotipo A, en el cual predominan las subclases de LDL I y II y el fenotipo B en el que predominan las subclases III y IV¹². En comparación con las LDL grandes y boyantes, las LDL pequeñas y densas (LDLpd) tienen mayor potencial aterogénico, el cual se atribuye a su mayor susceptibilidad oxidativa, menor afinidad por el receptor de LDL y mayor capacidad de unión a los proteoglicanos en la pared arterial^{3,10,13}.

En la actualidad existen diferentes métodos para la medición de las subfracciones de LDL tales como: Electroforesis en gel de poliacrilamida, Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ^1H , Ultracentrifugación de gradiente de concentración, entre otros^{14,15,16}. Estas técnicas tienen la desventaja de ser costosas y difíciles de estandarizar, además son poco accesibles a laboratorios de baja y mediana complejidad¹⁰. Es

por ello que se han buscado alternativas más simples de estimar las distintas subfracciones de LDL. Cada partícula de LDL está compuesta por una única molécula de apolipoproteína B100 (ApoB) que envuelve un núcleo lipídico compuesto mayormente por colesterol. De esta manera, la medición de ApoB en suero refleja, de forma estimada, el número de partículas de LDL, mientras que la medición de c-LDL indica de cantidad absoluta de colesterol que es transportado por dichas partículas. Por lo tanto, la relación c-LDL/ApoB estima la cantidad de colesterol que es transportado por partícula individual. De esta forma, una relación c-LDL/ApoB baja indica que el colesterol es transportado en un número elevado de partículas de LDL y el contenido lipídico de cada partícula es bajo, convirtiéndola en una partícula pequeña y densa, contrariamente, una relación c-LDL/ApoB alta indica que el colesterol es transportado por pocas partículas de LDL y por lo tanto las mismas contienen mayor contenido lipídico, convirtiéndolas en partículas grandes y boyantes. Hirano y col. compararon la medición de la relación c-LDL/ApoB con la cuantificación de LDLpd utilizando electroforesis de gradiente en gel en 63 pacientes japoneses con un amplio rango de valores del perfil lipídico, concluyendo que una relación c-LDL/ApoB de 1,20 corresponde a una media de diámetro de partículas de 25,5 nm, por lo que una relación menor a 1,20 se corresponde con fenotipo B, y una relación superior a dicho valor se corresponde con un fenotipo A¹⁰. Resultados similares fueron obtenidos por Wägner y col¹⁷, en Cataluña con 123 pacientes diabéticos y también por Griffin y col¹⁸ en el Reino Unido con 58 pacientes sanos, no fumadores y no obesos.

Esta relación es sencilla de medir e interpretar, además aporta información muy útil para la valoración del potencial aterogénico de las partículas de LDL de los pacientes. Se ha demostrado que en pacientes con un tamaño de partículas de LDL de 25,5 nm o menor, la incidencia de ECV se incrementa significativamente a medida que la concentración sérica de c-LDL aumenta, mientras que en pacientes con un tamaño de partícula de LDL superior no se observan diferencias significativas en la incidencia de ECV de acuerdo con la concentración sérica de c-LDL^{8,19}.

Bajo estas premisas, el objetivo del presente trabajo es estimar la prevalencia de LDLpd a través de la relación c-LDL/ApoB en la población

adulta que concurre al servicio de laboratorio del Nuevo Hospital Río Cuarto, y comprobar si existe asociación entre el fenotipo de LDL con las diferentes variables del perfil lipídico, como así también con factores de riesgo cardiovascular modificables como tabaquismo, sedentarismo, obesidad, niveles de glucemia y de hemoglobina glicada y no modificables como edad, sexo, hipertensión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo y transversal, donde se incluyeron 93 pacientes adultos que cumplieron los criterios de inclusión que acudieron al servicio de laboratorio del Nuevo Hospital Río Cuarto entre los meses de febrero y diciembre de 2019. El protocolo fue aprobado por el Comité de Capacitación y Docencia de dicho Hospital y se obtuvo el correspondiente consentimiento informado y escrito de cada paciente.

Los criterios de inclusión considerados fueron: comprender una edad entre 18 y 75 años, contar con 12 horas de ayuno al momento de la extracción. Aquellos pacientes que presentaron algunos de los siguientes criterios de exclusión no fueron admitidos: padecer o haber padecido en los últimos 3 meses alguna enfermedad bacteriológica o viral, padecer alguna enfermedad autoinmune, tener antecedentes de infarto agudo de miocardio (IAM) o Stroke, ya que estas situaciones clínicas pueden alterar de forma transitoria el perfil lipídico²⁰.

De cada participante se obtuvieron muestras de sangre a través de venopunción, recolectada en dos tubos: el primero sin agregado de anticoagulante el cual se centrifugó por 10 minutos a 3000 rpm. Se separó el suero y se utilizó para la determinación de los siguientes parámetros bioquímicos: Ct medido por técnica de colesterol oxidasa, c-HDL medido por técnica de detergente acelerador selectivo, c-LDL medido por técnica homogénea con detergente selectivo líquido, Tg medidos por técnica de glicerol fosfato oxidasa, ApoB medido por técnica inmunoturbidimétrica y Glucemia medida por técnica de hexoquinasa/ G-6-PDH. Adicionalmente se calculó el colesterol No-HDL, de acuerdo a la fórmula colesterol No-HDL = Colesterol total – c-HDL²¹; el segundo tubo que contenía EDTA tripotásico como anticoagulante se utilizó para la determinación de Hemoglobina Glicada, mediante técnica

enzimática. La totalidad de los análisis fueron procesados en un instrumento Abbott c4000.

Junto con la firma del consentimiento informado se recolectó información clínica como: edad, sexo, estatura, peso corporal, presión arterial (determinada por el personal del servicio de clínica médica del hospital con esfigmomanómetro, luego de un tiempo de reposo de al menos 10 minutos), antecedentes de hipertensión (en caso positivo el tratamiento que recibe), como así también información relacionada a hábitos como tabaquismo y actividad física (definida como practicar al menos 150 minutos semanales de actividad física moderada, o al menos 75 minutos semanales de actividad física intensa).

Se utilizó la siguiente información: edad, sexo, tabaquismo, Ct, c-HDL, presión arterial y medicación para la mantención de la presión arterial para calcular el score de Framingham en todos aquellos pacientes con una edad igual o superior a 30 años, utilizando la calculadora on-line de la página web <https://www.mdcalc.com/framingham-risk-score-hard-coronary-heart-disease>. Este es utilizado para estimar probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular o algún componente de la misma (Stroke, enfermedad coronaria, enfermedad vascular periférica, etc.) en un lapso 10 años.

Como criterios de clasificación de dislipemias se utilizó como referencia la guía National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III²¹. Se definió colesterolemia como deseable <200 mg/dl, límite 200-239 mg/dl, elevado >240 mg/dl. Valores de c-LDL <100 mg/dl fueron categorizados como óptimos, 100-129 mg/dl cercano al óptimo, 130-159 mg/dl límite, 160-189 mg/dl alto y >190 mg/dl muy alto. c-HDL se definió como bajo <40 mg/dl y alto >60 mg/dl. La trigliceridemia se catalogó como normal <150 mg/dl, límite 150-199 mg/dl, alta 200-499 mg/dl y muy alta >500 mg/dl. Para definir la presencia de LDLpd y fenotipo B se utilizó la Relación c-LDL/ApoB y se tomó como punto de corte el valor de 1,20, basándose en el estudio propuesto por Hirano¹⁰. Para las definiciones del estado glucémico se utilizaron los criterios de guía ALAD 2019²² los cuales están en concordancia con los criterios de la Sociedad Argentina de Diabetes²³, glucemia normal en ayuno <100 mg/dl o HbA1c <5,7%, glucemia en ayuno alterada 100-125 mg/dl o HbA1c 5,7-6,4% y diabetes glucemia en ayuno >126 mg/dl y

HbA1c >6,5%, o bien que el paciente tenga al momento de la extracción diagnosticada la enfermedad y/o esté recibiendo medicación/tratamiento para el control de la misma. Para definir sobrepeso y obesidad se utilizaron los criterios del Ministerio de Salud de la Nación Argentina²⁴ basados en el cálculo del Índice de masa corporal (IMC), calculado como peso (Kg)/talla²(Mts) los mismos son; insuficiencia ponderal IMC: <18,5 Intervalo normal IMC: 18,5-24,9, Sobrepeso IMC 25-29,9, Obesidad clase I IMC: 30-34,9, Obesidad clase II IMC: 35-39,9 y Obesidad clase III IMC >40.

Para el análisis estadístico se utilizó el software "InfoStat versión 2019". Las variables continuas fueron representadas como media y desviación estándar para aquellas que presentaron distribución normal y como mediana y rango intercuartil para aquellas que no presentaron distribución normal. La comparación de los diferentes factores de riesgo entre fenotipos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis y χ^2 de Pearson. Se utilizaron pruebas de regresión lineal para evaluar la relación de dependencia entre c-LDL/ApoB y las demás variables. Además, se utilizó análisis de regresión logística binomial para predecir la presencia de Fenotipo B. En todos los casos se utilizó un grado de significancia menor o igual a 0,05.

RESULTADOS

Un total de 93 pacientes participaron de la investigación. Las características poblacionales se resumen en la Tabla N°1. El 59,14% de los pacientes presentó fenotipo B.

Otros datos de relevancia para la investigación se relacionan al perfil lipídico. La Tabla N°2 resume la prevalencia de alteraciones de acuerdo a la categorización propuesta por la guía APTIII, donde se observó que más del 20% de individuos presenta alguna alteración del perfil lipídico: el 20,43% de los pacientes analizados presentó hipercolesterolemia (>240 mg/dl), 33,33% exhibe c-HDL bajo (<40 mg/dl), 16,13% tuvo un nivel de c-LDL alto o muy alto (>160 mg/dl) y 24,73% presentó una trigliceridemia alta o muy alta (>200 mg/dl).

Al estratificar las diferentes variables de acuerdo al fenotipo de LDL se observó diferencias estadísticamente significativas en edad, glucemia, c-HDL, c-LDL, triglicéridos, Score de Framingham y HbA1c, a diferencia de IMC,

colesterol total, colesterol No-HDL y ApoB (Tabla N°3).

Adicionalmente, se logró establecer diferencias significativas entre la relación c-LDL/ApoB con factores de riesgo modificables, como el hábito de fumar tabaco y sedentarismo a través de la prueba de χ^2 de Pearson ($p=0,0026$ y $0,0449$ respectivamente). En la Figura I se observa cómo la población tanto tabaquista (IA) como sedentaria (IB) presentan valores de Relación c-LDL/ApoB disminuidos, al ser comparadas con su contraparte no tabaquista y no sedentaria respectivamente. En la Figura IC se realizó la misma comparación entre la población que comparte ambos hábitos: por un lado, la población tabaquista y sedentaria y por el otro, la no tabaquista y no sedentaria, observándose una disminución estadísticamente significativa del valor de la relación c-LDL/ApoB en el primer grupo comparado al segundo ($p=0,0028$).

No se observaron diferencias significativas en cuanto al fenotipo respecto al sexo e hipertensión.

Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la relación c-LDL/ApoB y diferentes factores de riesgo cardiovascular: edad, glucemia, HbA1c, c-HDL, triglicéridos, c-LDL y score de Framingham (Tabla N°4). El análisis de regresión lineal arrojó los siguientes valores: edad ($p=0,0017$ $R^2=0,10$), glucemia ($p=0,0003$ $R^2=0,14$), HbA1c ($p=0,0001$ $R^2=0,16$), c-HDL ($p=0,0077$ $R^2=0,08$), triglicéridos ($p=0,0001$ $R^2=0,37$), ApoB ($p=0,0368$ $R^2=0,05$) y score de Framingham ($p=0,0289$ $R^2=0,06$) (Figura II). Además, se exploró el efecto de las variables que presentaron correlación con la relación c-LDL/ApoB a través de una regresión logística binaria (Tabla N°5) donde se observa como el ejercicio y los niveles c-HDL son factores protectores (OR=0,25 y 0,95 respectivamente), mientras que el resto de los factores son predictivos de fenotipo B, destacándose tanto el tabaquismo como la HbA1c (OR=2,31 y 2,84 respectivamente).

DISCUSIÓN

El predominio LDLpd ha sido aceptado como un factor de riesgo cardiovascular emergente por la National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III²¹ y el European Panel on Low Density Lipoprotein (LDL) Subclasses²⁵. Sin embargo, su determinación presenta dificultades para los laboratorios clínicos de baja y mediana

complejidad. Entre las metodologías más frecuentes para la medición de este parámetro se encuentran la electroforesis en gradiente en gel y la ultra centrifugación, no obstante, no se dispone aún de un método *Gold standard* para tal fin^{26,27}. Una alternativa de menor requerimiento de infraestructura y equipamiento apta para implementar en laboratorios de baja y mediana complejidad es la estimación de dichas partículas a través de la relación c-LDL/ApoB. Esta relación presenta una buena correlación con otras técnicas como la electroforesis en gradiente en gel^{10,28}.

En el presente estudio, 55 pacientes (59,14%) presentaron una relación c-LDL/ApoB menor a 1,20, punto de corte para definir fenotipo B. Este porcentaje es considerablemente más elevado al descripto en otras poblaciones: como la tailandesa (48,4%)¹¹, venezolana (45,7%)¹² y población diabética japonesa (26,3%)²⁹. Dato interesante de remarcar, dado que, como se mencionó anteriormente este parámetro se relaciona directamente con el aumento del riesgo de desarrollo de ECV. No existen reportes relacionados con la estimación o determinación de las partículas LDLpd en la población argentina, por lo que este podría considerarse el primer antecedente que denota la alta prevalencia del fenotipo B, si bien serían necesarios estudios poblacionales de mayor envergadura para confirmar estos hallazgos. Por otro lado, la comparación de la prevalencia de alteraciones del perfil lipídico con la prevalencia de valores de la relación LDL-c/ApoB menores a 1,20, revela una subestimación del riesgo cardiovascular poblacional si solo son consideradas alteraciones del perfil lipídico individualmente; Hipercolesterolemia (20,43%), Hipertrigliceridemia (22,73%), Hipercolesterolemia de baja densidad (16,13%) o Hipocolesterolemia de alta densidad (33,33%). Esto fortalece la noción de que incluir la determinación de ApoB al perfil lipídico y posterior cálculo de la relación LDL-c/ApoB brinda mejor información para evaluar el riesgo cardiovascular global de la población.

Al comparar los distintos factores de riesgo entre la población con Fenotipo A y Fenotipo B, se observaron diferencias significativas en: niveles de c-LDL, c-HDL, triglicéridos, glucosa y HbA1c, como así también en la edad, y hábitos como tabaquismo y sedentarismo. En cuanto a los niveles de lipoproteínas de baja densidad, el grupo perteneciente al fenotipo A presentó

valores superiores al fenotipo B, hecho paradójico ya que si solo se analizara la concentración de colesterol presente en la partículas de LDL, el grupo que presenta fenotipo A sería considerando de mayor riesgo cardiovascular en comparación al grupo que presenta fenotipo B, siendo que este último, presenta una mayor proporción de partículas de LDLpd y por lo tanto un mayor riesgo cardiovascular. Es por esto la importancia de la medición de los niveles de ApoB y la estimación de la presencia de LDLpd, ya que si solo se analizara la concentración de LDL, se podría sobreestimar el riesgo de ECV en pacientes con fenotipo A y subestimar el riesgo en pacientes con fenotipo B.

Por otro lado, se observó una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de glucemia y HbA1c con el tamaño de partícula de LDL (Figura IIB y IIC respectivamente). Diferentes estudios han reportado observaciones similares entre pacientes diabéticos y no diabéticos^{9,28,29}. Es de destacar que en este estudio de 15 pacientes que presentaron hiperglucemia (glucemia >126 mg/dl) solo uno presentó una relación c-LDL/ApoB mayor a 1,20. Otro hallazgo importante, es que los pacientes con fenotipo B presentan valores de glucemia y HbA1c significativamente más altos que aquellos con fenotipo A. La diabetes está asociada a una alta morbimortalidad cardiovascular y se caracteriza por altos índices de enfermedad coronaria. Esto se debe a la dislipemia característica de los pacientes diabéticos o insulino resistentes, en la que se observa aumento de triglicéridos, disminución de c-HDL y presencia de LDLpd. En las primeras etapas de la resistencia a la insulina observada en la obesidad abdominal y en la diabetes tipo 2, y posteriormente con la progresión a insulinopenia, existe un incremento de la lipólisis de los triglicéridos a nivel de los adipocitos y aumento de las concentraciones de ácidos grasos libres en el plasma que al llegar al hígado inducen la producción de triglicéridos, éstos son excretados a la sangre a través de la producción de lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL. También existe una menor actividad de la lipoproteína lipasa que hace que el catabolismo de los triglicéridos se entelezca, conduciendo a un incremento de las concentraciones de triglicéridos y a que las LDL y las HDL se enriquezcan por un lado en triglicéridos y por otro pierdan colesterol, debido a la acción de la proteína de transferencia de

ésteres de colesterol (CETP). Los triglicéridos de las VLDL son transferidos a través de esta proteína hacia las LDL, transformando estas últimas en LDL ricas en triglicéridos. En el hígado, las LDL y las HDL pierden triglicéridos por acción de la lipasa hepática y se transforman en partículas más pequeñas y densas. De esta manera, las partículas de LDL tienen más capacidad de lesionar la pared arterial y las HDL pierden parte de su capacidad protectora frente a la aterosclerosis, ya que tienen un menor potencial antioxidante, antitrombótico, antiinflamatorio y menor capacidad de realizar el transporte reverso del colesterol desde la pared arterial al hígado, desde donde será eliminado con la bilis. Además, las HDL pequeñas y densas son catabolizadas de forma acelerada, lo que contribuye a que sus concentraciones estén disminuidas^{30,31}. En este trabajo, al estratificar los niveles de Triglicéridos y c-HDL de acuerdo al fenotipo de LDL se observó una correlación con lo antes planteado, es decir, individuos pertenecientes al fenotipo B presentan valores significativamente mayores de triglicéridos y menores de c-HDL comparados a los del fenotipo A. También se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de c-HDL y triglicéridos con la relación c-LDL/ApoB (Figura IID y IIE respectivamente), hallazgo coincidente con otros estudios^{11,12,19}. Esto puede sugerir que los pacientes de esta cohorte que presentan fenotipo B, poseen una dislipemia aterogénica donde coexiste un exceso de triglicéridos y un déficit de c-HDL asociado a una serie de alteraciones de las lipoproteínas plasmáticas que las hace más aterogénicas, y entre ellas, la presencia de partículas LDL pequeñas y densas, confirniéndole a este grupo un riesgo cardiovascular aumentado.

En relación a los factores de riesgo modificables y no modificables, Freedman y col., han reportado una asociación positiva entre edad y disminución del diámetro de las partículas de c-LDL³² lo cual está en línea con lo observado en el presente estudio donde existe una correlación significativa entre la presencia de LDLpd y avance de la edad (Figura IIA). También puede observarse que los individuos con fenotipo B presentan una edad media significativamente superior a la que presentan los individuos con fenotipo A.

En cuanto al consumo de tabaco en este estudio se observó que la población fumadora presenta una relación c-LDL/ApoB menor que la población

no fumadora. Se ha planteado que el tabaco tiene efectos anti estrogénicos sobre el receptor ESR1 al que se le atribuye asociaciones con dislipemias y aumento de apolipoproteínas³³, adicionalmente es un oxidante de las partículas de LDL, que ocasiona disminución de c-HDL y un aumento de los triglicéridos^{33,34}. No obstante, existen trabajos que han encontrado resultados opuestos donde los consumidores de tabaco presentan un menor nivel LDLpd comparado con aquellos que no lo consumen³⁵. Sin embargo, la población estudiada en dicho estudio fue de pocos individuos (N=18), y debido a los riesgos atribuidos al tabaquismo los autores no recomiendan su consumo. Otro hábito donde se encontró diferencias significativas es el estilo de vida sedentario. Como se observa en los datos obtenidos, aquella población con vida activa presentó un mayor tamaño de partículas de LDL, en concordancia con otros trabajos^{36,37,38}, en los que se concluyó que realizar ejercicio regularmente disminuye el estrés oxidativo y aumenta la media del tamaño de las partículas de LDL^{36,37}. Esto fundamenta que tanto el tabaquismo como el sedentarismo sean considerados un factor de riesgo mayor y subyacente para ECV por la guía ATPIII²¹ respectivamente. Además, la modificación de dichos hábitos, es considerada parte del tratamiento efectivo para disminuir el riesgo cardiovascular.

Con el objetivo de evaluar el poder predictivo de la relación c-LDL/ApoB como marcador de riesgo cardiovascular, se realizó un análisis de correlación entre este parámetro y el score de Framingham. Este es un algoritmo específico de género utilizado para estimar el riesgo cardiovascular a 10 años de un individuo. Combina diferentes factores de riesgo: sexo, edad, presión arterial sistólica, Ct, c-HDL, el hábito de fumar tabaco, y la medicación para la estabilización de la presión arterial. Como resultado se obtiene una probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular o algún componente de la misma (Stroke, enfermedad coronaria, enfermedad vascular periférica, etc.) en un tiempo determinado, en este caso 10 años³⁹. Los datos obtenidos, demuestran que existe una correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros, si bien el coeficiente de correlación puede ser considerado bajo, esto puede deberse al tamaño muestral (n=93). Por otro lado, y con la intención de mejorar la correlación entre las

variables, se repitió el análisis solo correlacionando valores de la relación c-LDL/ApoB que denotaran un fenotipo B, donde no se obtuvo una mejora considerable de la asociación.

Por último, se observó que tanto el tabaquismo como niveles aumentados de HbA1c, predicen en mejor medida un Fenotipo B, dato que puede explicarse considerando los mecanismos involucrados en la modificación del metabolismo lipídico, mencionados anteriormente y asociados a ambos factores. A su vez, se observó que el ejercicio y los niveles de c-HDL son factores protectores de fenotipo B, lo cual ha sido previamente descrito^{34,35}. Por lo que fomentar la actividad física, principalmente del tipo aeróbica, se correlaciona con aumentos de los niveles de c-HDL⁴⁰, factor de suma importancia para la prevención de la ECV.

CONCLUSIÓN

Está ampliamente demostrado que las partículas de c-LDL son heterogéneas en cuanto a su diámetro, contenido de lípidos, susceptibilidad a la oxidación, interacciones con receptores y potencial aterogénico. Por lo que determinar la presencia de LDLpd en el ámbito clínico, toma cada vez mayor importancia al evaluar el riesgo cardiovascular de un paciente. Si bien se recomienda la determinación de las mismas por métodos como la electroforesis en gradiente en gel o ultracentrifugación, la estimación por medio de la relación c-LDL/ApoB es de utilidad para aquellos laboratorios que se encuentran imposibilitados para efectuar su medición. En base a ello, el presente trabajo permitió demostrar una alta prevalencia del fenotipo B en la población bajo estudio y a su vez determinar que existe una subestimación del riesgo cardiovascular si solo se evalúa a los pacientes utilizando el perfil lipídico tradicional. Adicionalmente la relación c-LDL/ApoB se correlaciona con factores de riesgo cardiovascular como edad avanzada, tabaquismo, sedentarismo, hiperglucemia, HbA1c alta, c-HDL bajo e hipertrigliceridemia, siendo los niveles de HbA1c y el tabaquismo los factores predictivos más importantes de fenotipo B y los niveles de c-HDL y el ejercicio los principales factores protectores contra las LDLpd. Por ello, es recomendable medir o estimar el tamaño y densidad de las partículas de LDL para categorizar en forma integral a los

pacientes según su riesgo cardiovascular y seleccionar el régimen terapéutico más adecuado.

En cuanto a las limitaciones, si bien este es el primer trabajo que utiliza la relación c-LDL/ApoB para estimar la presencia de LDLpd en la población local, son necesarios estudios de mayor envergadura con la utilización de las técnicas para la determinación de las subfracciones de las partículas de LDL para confirmar las observaciones halladas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Nuevo Hospital Río Cuarto “San Antonio de Padua”, por brindar la infraestructura necesaria para la realización de la investigación.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL, et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis MDTtext.com, Inc.; 2019
2. E. Leiva, S. Wehinger, L. Guzmán and R. Orrego. Role of Oxidized LDL in Atherosclerosis, Hypercholesterolemia, Sekar Ashok Kumar, IntechOpen; 2015
3. Ivanova EA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Atherosclerotic Diseases. Oxid Med Cell Longev; 2017.
4. Mills EJ, Rachlis B, Wu P, Devereaux PJ, Arora P, Perri D. Primary Prevention of Cardiovascular Mortality and Events With Statin Treatments. Journal of the American College of Cardiology; 2008;52(22):1769-81.
5. Afilalo J, Majdan AA, Eisenberg MJ. Intensive statin therapy in acute coronary syndromes and stable coronary heart disease: a comparative meta-analysis of randomised controlled trials. Heart; 2007;93(8):914-21.
6. Bares DM. Testeo lipoproteico y riesgo cardiovascular. Nuevas alternativas. RevFedArgCardiol; 2009; 38 (4): 186-192 :7.
7. Uydu HA, Bostan M, Atak M, Yılmaz A, Demir A, Akçan B, et al. Cholesterol Forms and Traditional Lipid Profile for Projection of

- Atherogenic Dyslipidemia: Lipoprotein Subfractions and Erythrocyte Membrane Cholesterol. *J Membr Biol*; 2014;247(2):127-34.
8. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Mauriège P, Bernard P-M, Després J-P, et al. Low-Density Lipoprotein Subfractions and the Long-Term Risk of Ischemic Heart Disease in Men: 13-Year Follow-Up Data From the Québec Cardiovascular Study. *ATVB*; 2005;25(3):553-9.
 9. Higashioka M, Sakata S, Honda T, Hata J, Yoshida D, Hirakawa Y, et al. Small Dense Low-Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Coronary Heart Disease in a Japanese Community. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*; 2019.
 10. Hirano T, Ito Y, Yoshino G. Measurement of Small Dense Low-density Lipoprotein Particles. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*; 2005;12(2):67-72.
 11. Kulanuwat S, Tungtrongchitr R, Billington D, Davies IG. Prevalence of plasma small dense LDL is increased in obesity in a Thai population. *Lipids in Health and Disease*; 2015;14(1):30.
 12. Castillo V, Colina F, Barrios E, Espinoza M, Leal U, Ruiz Fernandez N. LDL pequeña y densa en adultos y su relación con factores de riesgo cardiovascular tradicionales. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*; 2011;9:54-66.
 13. Samanta B. Small Dense Low-Density Lipoprotein: Biomarker or Potential Drug Target? *Annals of the National Academy of Medical Sciences (India)*; 2019;55(02):092-7.
 14. Balk E, Ip S, Chung M, Lau J, Lichtenstein AH. Low Density Lipoprotein Subfractions: Systematic Review of Measurement Methods and Association with Cardiovascular Outcomes. *Agency for Healthcare Research and Quality (US)*; 2008.
 15. Hirano T, Ito Y, Saegusa H, Yoshino G. A novel and simple method for quantification of small, dense LDL. *J Lipid Res*; 2003;44(11):2193-201.
 16. Blake GJ, Otvos JD, Rifai N, Ridker PM. Low-Density Lipoprotein Particle Concentration and Size as Determined by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy as Predictors of Cardiovascular Disease in Women; 2002; 106:1930–1937.
 17. Wägner AM, Jorba O, Rigla M, Alonso E, Ordóñez-Llanos J, Pérez A. LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype B in type 2 diabetes. *Acta Diabetol*; 2002;39(4):215-20.
 18. Griffin BA, Furlonger N, Iversen A. Plasma apolipoprotein(b) to LDL cholesterol ratio as a marker of small, dense LDL; *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 537-539
 19. St-Pierre Annie C., Cantin Bernard, Dagenais Gilles R., Mauriège Pascale, Bernard Paul-Marie, Després Jean-Pierre, et al. Low-Density Lipoprotein Subfractions and the Long-Term Risk of Ischemic Heart Disease in Men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*; 2005;25(3):553-9.
 20. Sánchez León M, Rodríguez Porto AL, Martínez Valdés LL. Desórdenes lipídicos: una puesta al día. *Revista Cubana de Endocrinología*. 2003;14(1):0-0.
 21. National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*; 2002;106: 3143–421
 22. Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2019. ISSN: 2248-6518.
 23. Guía de Práctica Clínica Nacional sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2; 2009
 24. Guía de Práctica Clínica Nacional sobre Diagnóstico y Tratamiento de la Obesidad en adultos para todos los niveles de atención; 2013
 25. Mikhailidis DP, Elisaf M, Rizzo M, et al. “European panel on low density lipoprotein (LDL) subclasses”: a statement on the pathophysiology, atherogenicity and clinical significance of LDL subclasses. *Curr Vasc Pharmacol*; 2011;9:533–71.
 26. Radwa Momtaz Abdelsamie Zaki Khalil, Dalia Ahmed Mohamed Al-Azab & Ola Abdelmoneim Akil. Is sdLDL a valuable screening tool for cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome?, *Alexandria Journal of Medicine*; 2017; 53:4, 299-305.
 27. Gerber PA, Nikolic D, Rizzo M. Small, dense LDL: an update. *Current Opinion in Cardiology*; 2017;32(4):454-9.
 28. Tani S, Yagi T, Atsumi W, Kawauchi K, Matsuo R, Hirayama A. Relation between low-density lipoprotein cholesterol/apolipoprotein B ratio and triglyceride-rich lipoproteins in patients with

- coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *CardiovascDiabetol*; 2017.
29. Kaneva AM, Potolitsyna NN, Bojko ER. Usefulness of the LDL-C/apoB ratio I the overall evaluation of atherogenicity of lipid profile. *ArchPhysiolBiochem*; 2017;123(1):16-22.
30. Hirano T. Pathophysiology of Diabetic Dyslipidemia. *J AtherosclerThromb*; 2018;25(9):771-82.
31. Expert Panel on Dyslipidemia. An International Atherosclerosis Society position paper: global recommendations for the management of dyslipidemia: executive summary. *Atherosclerosis*; 2014; 232: 410-3
32. Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Shalaurova I, Cupples LA, Parise H, D'Agostino RB, Wilson PW, Schaefer EJ. Sex and age differences in lipoprotein subclasses measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy: The Framingham Study. *Clin Chem*; 2004;50:1189-200
33. Shearman AM, Demissie S, Cupples LA, Peter I, Schmid CH, Ordovas JM, et al. Tobacco smoking, estrogen receptor α gene variation and small low density lipoprotein level. *Hum Mol Genet*; 2005;14(16):2405-13.
34. Urahama N, Iguchi G, Shimizu M, Fujihira K, Baba KH. Smoking and small, dense low-density lipoprotein particles: Cross-sectional study;2007.
35. Slagter SN, van Vliet-Ostaptchouk JV, Vonk JM, Boezen HM, Dullaart RP, Kobold ACM, et al. Associations between smoking, components of metabolic syndrome and lipoprotein particle size. *BMC Medicine*; 2013;11(1):195.
36. Kotani K, Tsuzaki K, Sakane N, Taniguchi N. The Correlation Between Small Dense LDL and Reactive Oxygen Metabolites in a Physical Activity Intervention in Hyperlipidemic Subjects. *J ClinMed Res*; 2012;4(3):161-6.
37. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the Amount and Intensity of Exercise on Plasma Lipoproteins. *New England Journal of Medicine*; 2002;347(19):1483-92.
38. Wang Y, Xu D. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins. *Lipids in Health and Disease*; 2017;16(1):132.
39. D'Agostino, R.B., Pencina, M.J., Massaro, J.M., Coady, S. Cardiovascular Disease Risk Assessment: Insights from Framingham. *Glob Heart*; 2013;8, 11–23.
40. Skoumas J, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Zeimbekis A, Papaioannou I, et al. Physical activity, high density lipoprotein cholesterol and other lipids levels, in men and women from the ATTICA study. *Lipids in Health and Disease*; 2003;7.

Tablas y gráficos:

Tabla N°1: Características de la población de estudio

Variable	Distribución
Edad (años)	49 (36-55) †
IMC (kg/mts ²)	31 (26-36,50) †
Fenotipo A	38 (40,88%) *
Fenotipo B	55 (59,14%) *
Sexo	
Masculino	43 (46,24%) *
Femenino	50 (53,76%) *
Tabaquismo	25 (26,88%) *
Sedentarismo	65 (69,89%) *
Hipertensión	18 (19,35%) *
Diabetes	25 (26,68%) *
Glucemia (mg/dl)	92 (84-99) †
Colesterol total (mg/dl)	195,63 ± 44,52‡
C-HDL (mg/dl)	44 (38-51) †
C-LDL (mg/dl)	118,53 ± 37,83‡
Triglicéridos (mg/dl)	144 (111-203) †
Colesterol No-HDL (mg/dl)	145 (115-177) †
ApoB (mg/dl)	101,99 ± 32,33‡
Hba1c (%)	5,4 (5,1-5,7) †
Relación c-LDL/ApoB	1,17 ± 0,14 ‡
Score de Framingham (%)	3,50 (0,70-8,30) †

Tabla N°1: * La información se presenta como frecuencia absoluta, frecuencia relativa. † La información se presenta como mediana, rango intercuartil. ‡ La información se presenta como media ±desviación estándar. En la tabla se resumen las características clínicas y bioquímicas de la población en estudio.

Tabla N°2: Características del perfil lipídico de la población

Variable	Rango de referencia	Frecuencia absoluta (frecuencia relativa)
Colesterol Total	Deseable (<200 mg/dl)	58 (62,37%)
	Límite (200-239 mg/dl)	16 (17,23%)
	Alto (>240 mg/dl)	19 (20,43%)
C-HDL	Bajo (<40 mg/dl)	31 (33,33%)
	Deseable (40-59 mg/dl)	53 (56,99%)
	Alto (>60 mg/dl)	9 (9,68%)
C-LDL	Nivel óptimo (<100 mg/dl)	32 (34,41%)
	Cercano al óptimo (100-129 mg/dl)	29 (31,18%)
	Límite (130-159 mg/dl)	17 (18,28%)
	Alto (160-189 mg/dl)	10 (10,75%)
	Muy alto (>190 mg/dl)	5 (5,38%)
Trigliceridemia	Normal (<150 mg/dl)	54 (58,06%)
	Límite (150-199 mg/dl)	16 (17,20%)
	Alto (200-499 mg/dl)	21 (22,58%)
	Muy alto (>500 mg/dl)	2 (2,15%)

Tabla N°2: La tabla resume las distribuciones del perfil lipídico de la población estudiada según los puntos de corte propuestos.

Tabla N°3: Comparación entre las variables correspondientes a fenotipo A y fenotipo B

Variable	Fenotipo A	Fenotipo B	p-valor
Edad (Años)*	42 (34-52)	52 (40-57)	0,0132
IMC (kg/Mts ²)*	30,60 (24,20-35,20)	32,90 (27-37)	0,2506
Glucemia (mg/dl)*	89 (81-94)	95 (85-139)	0,0067
Colesterol Total (mg/dl) †	198,29±34,01	193,80±50,76	0,5317
C-HDL (mg/dl)*	48 (40-59)	41 (37-50)	0,0330
C-LDL (mg/dl) †	130,32±35,91	110,38±37,35	0,0186
Triglicéidos (mg/dl)*	127,50 (86-154)	156 (119-218)	0,0008
Col No-HDL (mg/dl)*	145 (124-172)	145 (112-179)	0,9688
ApoB (mg/dl) †	101,24±29,37	102,51±34,48	0,7133
HbA1c (%)*	5,3 (4,9-5,5)	5,4 (5,2-6,9)	0,0053
Score de Framingham (%)*	1,55 (0,50-5,30)	5,15 (1,40-8,80)	0,0098

*La información se presenta como mediana y rango intercuartil.

†La información se presenta como media ±desviación estándar.

Tabla N°3: La tabla resume las diferencias de las características poblacionales según el fenotipo de LDL. Para evaluar las diferencias se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. En negrita se encuentran los valores que fueron significativos ($p < 0,05$).

Figura I: Diferencias de la relación c-LDL/ApoB entre las poblaciones tabaquista vs no tabaquista, sedentaria vs no sedentaria y tabaquista y sedentaria vs. no tabaquista y no sedentaria

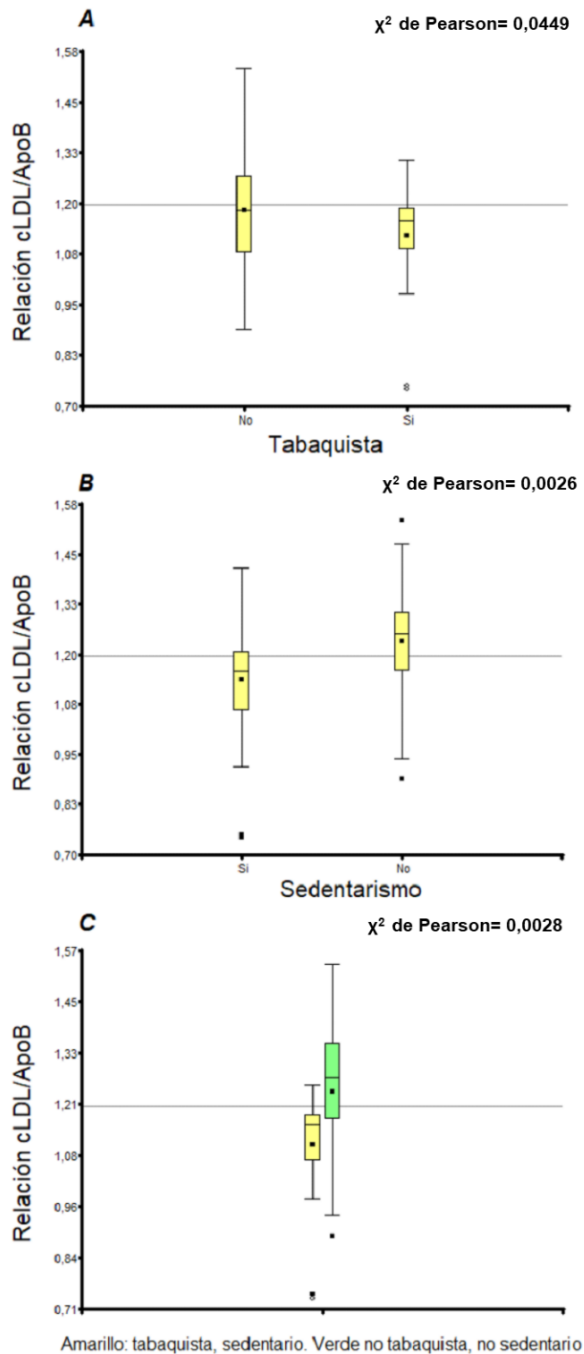


Figura I: A: comparación de la relación c-LDL/ApoB entre la población tabaquista vs no tabaquista. **B:** comparación de la relación c-LDL/ApoB entre la población sedentaria vs no sedentaria. **C:** comparación de la relación c-LDL/ApoB entre la población tabaquista y sedentaria vs no tabaquista y no sedentaria. Para la correlación se utilizó la prueba de chi cuadrado de Pearson, en el eje de las X se dispone las variables a correlacionar, en el eje Y los valores de la relación c-LDL/ApoB. La línea transversal corresponde a un valor de 1,20, punto de corte para definir los fenotipos.

Figura II: Regresiones Lineales de diferentes variables y la Relación LDL/ApoB.

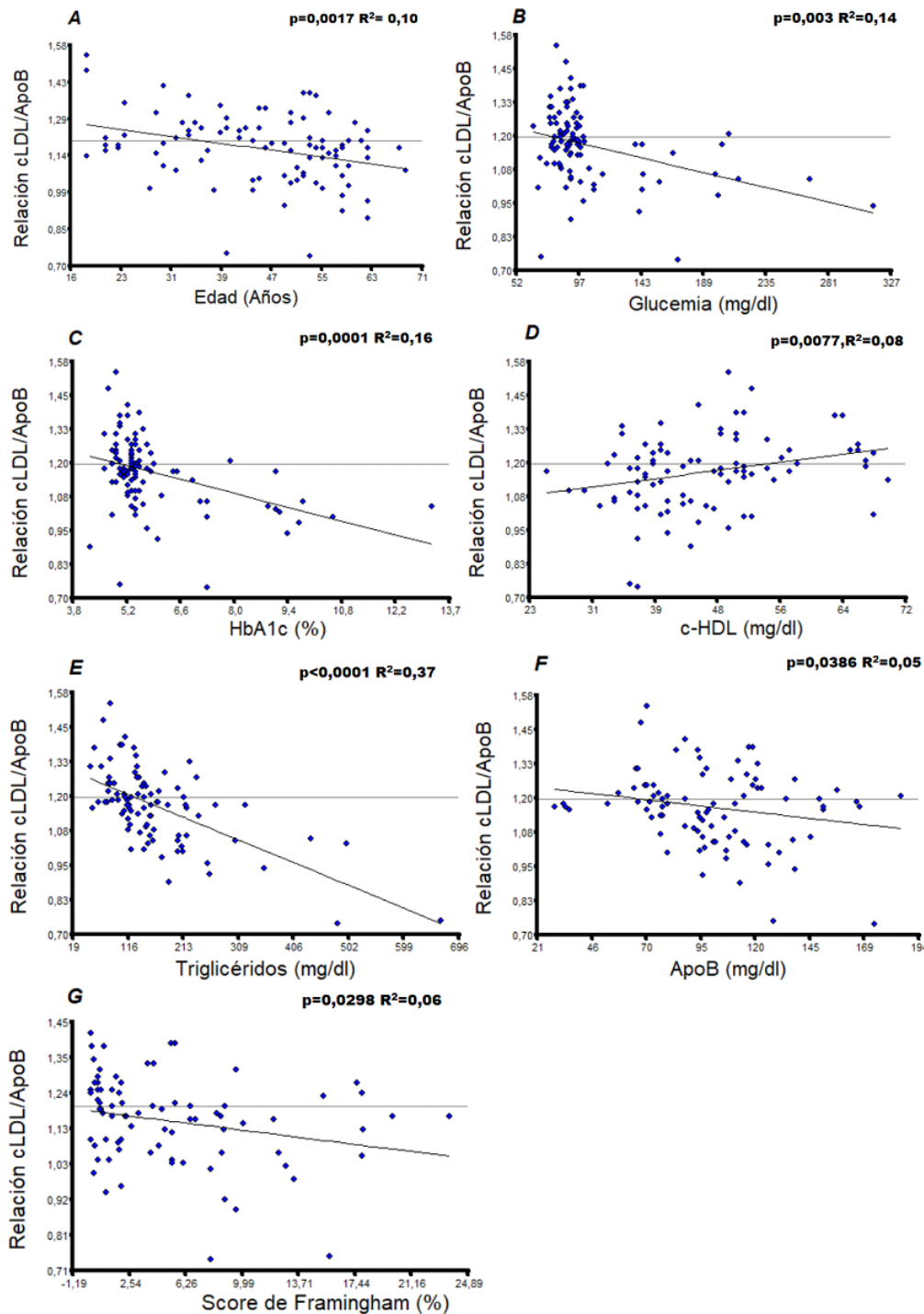


Figura II. A: Análisis de regresión lineal entre Edad y relación c-LDL/ApoB. **B:** Análisis de regresión lineal entre glucemia y relación c-LDL/ApoB. **C:** Análisis de regresión lineal entre HbA1C y relación c-LDL/ApoB. **D:** Análisis de regresión lineal entre c-HDL y relación c-LDL/ApoB. **E:** Análisis de regresión lineal entre Tg y relación c-LDL/ApoB. **F:** Análisis de regresión lineal entre ApoB y relación c-LDL/ApoB. **G:** Análisis de regresión lineal entre Score de Framingham y relación c-LDL/ApoB. Se realizó un análisis de regresión lineal para cada variable utilizando la relación c-LDL/ApoB como variable dependiente, los valores de p y R^2 se encuentran en la parte superior de cada línea. La línea transversal en todos los gráficos se corresponde con el valor de 1,20 de la Relación c-LDL/ApoB.

Tabla N°4 análisis de correlaciones de Spearman:

Variables	Coefficiente de Spearman	p-valor
Edad	-0,31	0,0025
IMC	-0,12	0,2472
Glucemia	-0,33	0,0012
Colesterol Total	-0,03	0,7728
Colesterol HDL	0,28	0,0061
Colesterol LDL	0,21	0,0407
Triglicéridos	-0,53	<0,0001
Colesterol No-HDL	-0,10	0,3252
ApoB	-0,17	0,0960
HbA1c	0,38	0,0002
Score de Framingham	-0,30	0,0063

Tabla N°4: La Tabla resume las correlaciones de Spearman, en todos los casos la variable a correlacionar es la Relación c-LDL/ApoB. En negrita se muestran aquellas que poseen una significancia menor a 0,05

Tabla N°5: Regresión logística binomial

Variable independiente	Odds Ratio	Intervalo de confianza	p-valor
HbA1c	2,31	1,19-4,47	0,0128
Edad	1,04	1,01-1,08	0,0223
Trigliceridemia	1,01	1,00-1,02	0,0037
C-HDL	0,95	0,91-0,99	0,0243
Glucemia	1,02	1,00-1,05	0,0207
Ejercicio	0,25	0,10-0,63	0,0034
Tabaquismo	2,84	1,00-7,92	0,0498

Tabla N°5: La Tabla resume la regresión logística binomial, se utilizó como variable dependiente la presencia de fenotipo B, y como variables independientes HbA1c, Edad, Trigliceridemia, c-HDL, Glucemia, Ejercicio y Tabaquismo. La Información esta presentada como *Odds Ratio* y 95% intervalo de confianza. Se presentan aquellas variables que tuvieron un grado de significancia menor a 0,05.