

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“Niveles de apoproteína B<sub>100</sub> sérica como marcador de riesgo a enfermedades cardiovasculares en pacientes hipertensos”**

**INGRID MARIELA WUG RODRÍGUEZ**

**QUÍMICA BIÓLOGA**

**Guatemala, 8 Mayo del 2,009**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“Niveles de apoproteína B<sub>100</sub> sérica como marcador de riesgo a enfermedades cardiovasculares en pacientes hipertensos”**

**Informe de Tesis**

Presentado por

**INGRID MARIELA WUG RODRÍGUEZ**

Para optar al título de

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, 8 de Mayo del 2,009

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez	Vocal IV
Br. Aníbal Rodrigo Sevillanos Cambroner	Vocal VI

## **ACTO QUE DEDICO**

### **A DIOS**

Por darme la vida, la fuerza, el entendimiento y la paciencia para poder culminar con éxito esta etapa de mi vida.

### **A MIS PADRES**

Renán y Martha, por hacerme la persona que soy, por darme los consejos, el apoyo, el amor, por todos los sacrificios hechos, por ser el ejemplo de vida, por inspirarme a seguir adelante, y por el orgullo que siento al ser su hija. GRACIAS.

### **A MI ESPOSO**

Darwin, por haber llegado a mi vida, por todo el amor, apoyo, fortaleza y dedicación GRACIAS.

### **A MIS HERMANOS**

Renán y Ericka, por todos los momentos compartidos, por el cariño, y ayuda incondicional.

### **A MI SOBRINO**

Diego Andrés, por la bendición que representa, por el amor, y felicidad que trajo a nuestra familia.

### **A MIS ABUELITOS**

Amalia, Manuel (†), Teresa (†), por todo el cariño y consejos dados a lo largo de mi vida.

### **A MIS AMIGOS**

Aleida, Haydeé, Vinicio, Julio, Byron por todos esos momentos compartidos, por la amistad de vida que tenemos, el cariño y el apoyo siempre recibido.

## AGRADECIMIENTO

- A Dios, por permitirme llegar a este momento, por hacer realidad mi sueño.
- A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por acogerme durante mis años de estudio, y por darme la oportunidad de egresar de sus gloriosas instalaciones.
- A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por ser la cuna de mis conocimientos, por forjarme como profesional, por los momentos inolvidables.
- A mi asesora Licda. Alba Marina Valdés de García, por su cariño, por sus consejos y paciencia en la realización de esta investigación.
- A mis revisoras, MSc. Vivian Matta y Licda. Karla Lange, por su tiempo, ayuda y consejos que ayudaron a esta investigación.
- A los catedráticos y personal administrativo de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Lic. Osberth Morales, Dr. Jorge Luis De León por su ayuda incondicional, por ser siempre la mano amiga, mil gracias. Shenya, Any por todo su apoyo, y palabras de aliento.
- A mis compañeros de promoción, por esos años de alegría, por las penas y los logros que obtuvimos juntos, a todos los guardo en mi mente y en mi corazón.
- A los Ingenieros Gianna Marsicovetere y Boris de León por su comprensión en el trabajo para poder agilizar los trámites de esta investigación.



## INDICE

	<b>Página</b>
I. Resumen.....	01
II. Introducción.....	03
III. Antecedentes.....	05
A. Enfermedades cardiovasculares.....	05
1 Factores de riesgo no modificables.....	06
2 Factores de riesgo modificables.....	06
B. Presión arterial.....	07
1 Sistemas de control.....	08
a) Mecanismos de acción rápida.....	08
b) Mecanismos de acción intermedia.....	10
c) Mecanismos a largo plazo (horas).....	12
C. Hipertensión arterial.....	12
1 Clasificación.....	12
2 Efectos de la hipertensión arterial en el cuerpo.....	14
D. Lípidos y lipoproteínas.....	15
1 Metabolismo de los lípidos y lipoproteínas.....	15
2 Apolipoproteínas.....	16
a) Mantenimiento de la estructura de la lipoproteína.....	17
b) Regulación de la actividad de los enzimas claves.....	17
c) Reconocimiento de superficie.....	17
d) Apolipoproteínas del grupo B.....	18
3 Generalidades y clasificación de las lipoproteínas.....	20
4 Formación y catabolismo de IDL y LDL a partir de VLDL.....	22
E. Aterosclerosis.....	24
1 Hiperlipemias, hiperlipoproteínemias y dislipemias.....	26
2 Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP).....	27
F. Métodos de determinación.....	28
1 Colesterol total.....	28
2 Triglicéridos.....	29
3 Colesterol HDL.....	30
4 Lipoproteínas.....	30
5 Apolipoproteínas.....	31
G. Significado clínico de la medición de apolipoproteínas.....	33
H. Problemas prácticos en el análisis de apolipoproteínas.....	34
I. Estudios realizados.....	35
IV. Justificación.....	38
V. Objetivos.....	40
VI. Hipótesis.....	41
VII. Materiales y métodos.....	42
VIII. Resultados.....	50
IX. Discusión de resultados.....	57
X. Conclusiones.....	60
XI. Recomendaciones.....	61
XII. Referencias bibliográficas.....	62
XIII. Anexos.....	68

Anexo 1 (Boleta de selección de paciente).....	68
Anexo 2 (Tabla de lectura inmunodifusión radial Apo B100).....	69
Anexo 3 (Recomendaciones).....	70

## I. RESUMEN

La hipertensión arterial y la hipercolesterolemia están considerados entre los factores de riesgo más importantes de padecer enfermedades cardiovasculares. Su importancia radica en su efecto acelerador de la aterosclerosis, el que se potencia de forma exponencial cuando se presentan en un mismo sujeto. Es así, que el aumento en los niveles séricos de colesterol incrementa de forma gradual y continua el riesgo vascular del hipertenso, además de contribuir al desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial.

El riesgo de aparición de complicaciones cardiovasculares es gradual y directamente proporcional tanto a los niveles de presión arterial como a los de colesterol total y/o colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol). Por el contrario esta relación de riesgo es inversa al nivel de HDL-colesterol.

La determinación de Apo B-100 proporciona una herramienta clínica confiable para identificar los pacientes con un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular, los cuales no podrían ser identificados fácilmente mediante las determinaciones convencionales de niveles séricos de colesterol.

De acuerdo a las especificaciones del programa Americano de Educación del Colesterol (NCEP) la apolipoproteína B<sub>100</sub> es el mejor índice para estimar el número de partículas de colesterol en la circulación sanguínea; es por esta razón que se considera de importancia la medición de la Apo B<sub>100</sub> al paciente que cumple con los criterios de inclusión con el fin de profundizar en el conocimiento y manejo del riesgo a enfermedad cardiovascular.

En este estudio se determinaron los valores séricos de colesterol LDL, colesterol HDL por el método colorimétrico y Apo B<sub>100</sub> por inmunodifusión radial en 50 pacientes hipertensos que constituyeron el grupo de casos y 50 pacientes normotensos que constituyeron el grupo control. En ambos grupos se excluyeron las personas que padecían diabetes mellitus tipo II y/o con hábito de fumar.

En base al análisis de los resultados estadísticos (odds ratio) se determinó que un 4.2% del total de la población de casos tiene un riesgo elevado a desarrollar algún tipo de enfermedad cardiovascular, esto debido a que poseen niveles séricos de colesterol LDL y Apo B<sub>100</sub> aumentados, además de presentar hipertensión y encontrarse entre las edades de 56-65 años.

En el análisis de las gráficas de Tuckey se demostró la relación positiva entre el colesterol LDL y el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub>, por lo que se considera de importancia implementar en el laboratorio clínico la determinación de Apo B<sub>100</sub> como un análisis de rutina que ayudará en la prevención de pacientes que presenten los factores de riesgo mencionados.

## II. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de muerte en los países occidentales. Sin embargo, se han realizado importantes avances en su diagnóstico y tratamiento. Según estadísticas realizadas por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, el infarto al miocardio es una de las primeras causas de mortalidad en adultos. El porcentaje de incidencia de infartos al miocardio en 1,999 fue de 1.21 por ciento y en el 2,001 de 3.04 por ciento, el cual ha ido en aumento en los últimos años (1,2).

Actualmente se conoce que existen múltiples factores de riesgo que predisponen al desarrollo de enfermedad cardiovascular. Uno de los principales es la hipertensión arterial, por lo que se cataloga como “factor de riesgo mayor”, debido a que acelera la progresión de la aterosclerosis, aumenta la post-carga del ventrículo izquierdo, lo que incrementa el estrés parietal y el consumo miocárdico de oxígeno, además de que la hipertrofia ventricular izquierda secundaria a la hipertensión sostenida también condiciona un incremento en el consumo de oxígeno, factor clave en el desarrollo de cardiopatía isquémica (2).

El término factor de riesgo no implica causalidad, sino más bien una serie de circunstancias biológicas que identifican a las personas con riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Entre los factores de riesgo clásicos están el aumento del colesterol total (C-total) del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL), disminución del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), hipertensión arterial, obesidad, sedentarismo, historia familiar de aterosclerosis, aumento de edad y género masculino (2).

Todos estos factores, salvo los tres últimos, son modificables, por lo que los esfuerzos en salud pública deben estar dirigidos a modificarlos favorablemente. Sin embargo, los cambios socioeconómicos que han existido en el mundo en los últimos años (cambios en los patrones de alimentación, estilo de vida, etc.) hace que las enfermedades cardiovasculares se hayan generalizado en todos

los estratos sociales y en todos los países, incluidos los menos desarrollados (3).

Las apoproteínas que se relacionan directamente con el riesgo cardiovascular son las ApoA<sub>1</sub> y ApoA<sub>2</sub>, principales proteínas de las HDL, y la apoproteína B<sub>100</sub> principal proteína de las LDL (8).

Se demostró la importancia de la determinación de la apoproteína B<sub>100</sub>, por medio de la inmunodifusión radial en placa, como un marcador de riesgo cardiovascular, ya que la misma se considera como una herramienta relevante en establecer el riesgo mencionado, debido a que ésta puede proveer información que no podría ser obtenida por los perfiles convencionales de lípidos y lipoproteínas.

### **III. ANTECEDENTES**

#### **A. Generalidades de las enfermedades cardiovasculares**

Las enfermedades coronarias del corazón, se caracterizan por un aporte limitado de oxígeno al músculo cardíaco, presentando manifestaciones clínicas que van desde la angina de pecho, hasta el infarto al miocardio, y la muerte repentina; la principal causa es la aterosclerosis coronaria, causada por la elevación de lípidos (3).

Desde los años 40 y 50, estudios poblacionales, así como las comparaciones entre distintas culturas, proporcionan pruebas abundantes de que estas enfermedades constituyen una causa importante de mortalidad en grandes poblaciones (3).

En Estados Unidos de América en el año 2,002 el 50 por ciento de las muertes se atribuyen a complicaciones de aterosclerosis; tales como infarto al miocardio y vasculopatía periférica. En España en el año 2001, el 24 por ciento de las muertes se debe a enfermedad isquémica del corazón, y en Colombia en el año 2001 fue la segunda causa de morbilidad y mortalidad después de la muerte violenta (3).

Este grupo de enfermedades es más frecuente en hombres y existe una marcada diferencia en los grupos mayores de 50 años. Las manifestaciones clínicas en la enfermedad coronaria aparecen en promedio 10 años más tarde en las mujeres comparado con los hombres, esto se debe a que durante la edad fértil, existe una protección natural que retarda el daño arterial. Los estrógenos, especialmente el estradiol, parecen ser los responsables de la protección cardiovascular en las mujeres jóvenes, de tal manera que en la menopausia cuando disminuyen los niveles de estradiol aumenta el nivel de estriona, convirtiéndose la estriona en el principal estrógeno, por lo tanto el desarrollo de enfermedad coronaria es semejante al de los hombres (4).

Las personas con enfermedades cardiovasculares pueden no presentar ningún síntoma, o pueden experimentar dificultad para respirar cuando hacen

ejercicio o cuando están acostados, fatiga, aturdimiento, mareo, desvanecimientos, depresión, problemas de memoria, confusión, despertar frecuente durante el sueño, dolores en el pecho, conciencia de los latidos cardiacos, sensación de aleteo o de golpeteo en el pecho, hinchazón de los tobillos o vientre grande (5).

Numerosos estudios clínicos y estadísticos han identificado los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Estos pueden ser agrupados en dos categorías:

### **1. Factores de riesgo mayores no modificables**

- a) Herencia:** Hijos de pacientes con enfermedad cardiovascular.
- b) Sexo masculino:** Los hombres tienen mayor riesgo de enfermedad cardiovascular que las mujeres, y son afectados en edades más tempranas. Luego de la menopausia el riesgo de las mujeres aumenta, pero aún así es menor.
- c) Edad:** Cuatro de cinco pacientes que fallecen por enfermedad cardiovascular son mayores de 65 años (6).

### **2. Factores de riesgo mayores que pueden ser modificados**

- a) Cigarrillo / fumadores de tabaco:** Los fumadores tienen el doble riesgo de enfermedad cardiovascular con respecto a los no fumadores, ya que tienen de 2 a 4 veces más riesgo de muerte súbita que los no fumadores. Los que sufren ataque cardíaco tienen mayor riesgo de muerte súbita en la primera hora luego del evento agudo que los no fumadores. Las evidencias parecen indicar que la exposición crónica a ambientes con humo de tabaco (fumadores pasivos) aumentaría el riesgo de enfermedad cardiovascular.
- b) Colesterol aumentado en sangre:** El riesgo de enfermedad coronaria se incrementa con el aumento de los niveles de colesterol. Cuando otros factores como hipertensión y tabaquismo están presentes, el riesgo crece más aún.
- c) Hipertensión:** La hipertensión arterial incrementa el trabajo a que es sometido el corazón. Aumenta el riesgo de accidente vascular encefálico, ataque cardíaco, falla renal, etc. Cuando la hipertensión se acompaña de

obesidad, tabaquismo, hipercolesterolemia o diabetes el riesgo aumenta notoriamente.

**d) Inactividad física:** El sedentarismo es un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular. La actividad aeróbica regular, juega un rol significativo en la prevención. Niveles moderados de actividad, son beneficiosos a largo plazo si se realizan regularmente (6, 46).

## **B. Generalidades de la presión arterial (PA)**

La presión arterial (PA) se define como la fuerza ejercida por la sangre contra cualquier área de la pared arterial y se expresa a través de las diferentes técnicas de medición como PA sistólica, PA diastólica y PA media. (7).

Con frecuencia se señala que la misma es controlada por el gasto cardíaco y la resistencia periférica total ya que como se sabe ésta es igual al producto de ambas.

En cierto sentido este planteamiento es correcto, sin embargo, ninguno de ellos la controla de manera absoluta porque a su vez estos dependen de muchos otros factores fisiológicos como:

- **Gasto cardíaco (GC)**

Está determinado por la frecuencia cardiaca y la fuerza de contracción, estos a su vez están en función del retorno venoso que depende de otros factores como son la actividad constrictora o dilatadora de las venas, la actividad del sistema renal, entre otros.

- **Resistencia periférica total (RPT)**

Dependerá de la actividad constrictora o dilatadora de las arteriolas, del eje renina angiotensina y de la propia magnitud del GC entre otros. En consecuencia el GC y la RPT son operadores para el control de la PA; que se deben a sistemas de mecanismos de regulación más complejos relacionados entre sí y tienen a su cargo funciones específicas (7).

## **2. Sistemas de control**

Son múltiples los mecanismos fisiológicos conocidos que intervienen en el control de la PA y que al mantener una estrecha interrelación garantizan la homeostasis del organismo. Estos sistemas de control son:

### **a) Mecanismos de acción rápida (minutos)**

- **Barorreceptores**

Se estimula con PA de 60 a 180 mmHg y se encuentran localizados en las paredes de las grandes arterias: aórticas (cayado aórtico) y carotídeas (seno carotídeo) que son sensibles a cambios de presión, responden con mayor eficacia a los aumentos bruscos de PA sin que se excluya su funcionamiento en caídas de la misma (7).

El aumento de la PA inhibe el centro vasomotor bulbar y excita el vago, todo esto conlleva a la vaso dilatación periférica, la disminución de la frecuencia cardiaca y la fuerza de contracción con la consiguiente disminución de la PA por disminución de la RPT y disminución del GC (7).

Ponerse de pie hace que la PA en la cabeza y parte superior del cuerpo disminuya y esto puede causar pérdida del conocimiento, se estimulan los barorreceptores que desencadenan un reflejo inmediato que produce una fuerte descarga simpática a todo el organismo, aumentando la presión en la cabeza y parte superior del cuerpo. Como el sistema barorreceptor se opone a la disminución o aumento de la PA, muchas veces recibe el nombre de sistema amortiguador de la presión. El sistema barorreceptor tiene poca o ninguna importancia en el mecanismo a largo plazo porque se adaptan en un período de 1 a 2 días (7).

- **Quimiorreceptores**

Son células quimiosensibles localizadas en cuerpos aórticos y carotídeos que tienen una adecuada irrigación sanguínea y le permite detectar modificaciones en la concentración de oxígeno, dióxido de carbono e

hidrógeno, o sea, disminución de la concentración de oxígeno y el aumento de las concentraciones de dióxido de carbono e hidrógeno debido al descenso de la PA (7).

Las señales transmitidas desde los quimiorreceptores al centro vasomotor lo estimulan y aumenta la actividad simpática conjuntamente con el aumento del GC, la RPT y la PA.

Este reflejo contribuye a normalizar la PA cuando la PA media se encuentra por debajo de 80 mmHg (7).

- **Receptores de baja presión**

Reflejos auriculares y de las arterias pulmonares: Tanto las aurículas como las arterias pulmonares tienen receptores de estiramiento llamados receptores de baja presión. Estos detectan cambios de presión por aumento de volumen en las zonas de baja presión, desencadenando reflejos paralelos a los barorreceptores (7).

- **Respuesta isquémica del sistema nervioso central**

Normalmente la mayor parte del control nervioso de la PA se lleva a cabo por reflejos que se originan en los barorreceptores, quimiorreceptores y receptores de baja presión.

Sin embargo, cuando el flujo sanguíneo en el centro vasomotor disminuye lo bastante para causar carencia nutricional, es decir, para producir isquemia cerebral estas neuronas se estimulan provocando vasoconstricción intensa y la PA sistémica aumenta rápidamente. Esta se estimula con cifras de presión menores de 60 mmHg; su mayor grado de estimulación es con PA de 15 a 20 mmHg.

La respuesta isquémica es un control de urgencia de la PA. Se denomina en ocasiones mecanismo de control de la presión para "resistir hasta el último minuto" (7).

- **Participación de los nervios y músculos esqueléticos**

Estimulación del sistema vasoconstrictor simpático, vasomotor y otras zonas de la sustancia reticular del tallo cerebral transmiten impulsos por los nervios esqueléticos a todos los músculos del cuerpo, fundamentalmente a los músculos de la prensa abdominal produciéndole un aumento del tono muscular que conlleva la compresión de los reservorios venosos del abdomen que desplazan la sangre al corazón con aumento del GC y de la PA (7).

- **Ondas respiratorias**

Con cada ciclo respiratorio la PA aumenta y disminuye unos 4 a 6 mmHg de forma ondulatoria lo que origina las llamadas ondas respiratorias de la PA. Son el resultado de diferentes efectos, algunos de ellos de naturaleza refleja (7).

El resultado neto durante la respiración normal suele ser: Aumento de la PA durante la parte inicial de la espiración y disminución a la mitad del ciclo respiratorio (7).

## **b) Mecanismos de regulación intermedia (minutos)**

Existen mecanismos que tienen un tiempo para actuar hasta de 30 minutos y se les denomina de acción intermedia, como son:

- **Vasoconstricción por el sistema renina angiotensina**

En 1,898 Bergman y colaboradores encontraron que el extracto de riñón contenía renina, luego en 1,934 Goldblatt y colaboradores demostraron que al contraer la arteria renal se producía hipertensión arterial por liberación de renina, en 1,950 se reconocieron dos tipos de angiotensina I y II. Angiotensina I (decapéptido) y II (octopéptido) formada a partir de la angiotensina I por acción de la enzima convertidora (ECA), y ésta es la forma activa.

Posteriormente se descubre la angiotensina III que es un fuerte vasoconstrictor activo y estimula la médula suprarrenal, liberando aldosterona.

El sistema renina-angiotensina (SRA) es un elemento importante de los mecanismos interrelacionados que regulan la hemodinámica y el equilibrio de agua y electrolitos.

Los factores que activan el sistema son: la disminución del volumen sanguíneo (VS), la presión de perfusión renal o de concentración de sodio en plasma. Los que inhiben el sistema son los factores que aumentan estos parámetros (7).

El factor limitante en la formación de angiotensina II es la producción de renina. Esto es debido a que la renina activa el sistema renina-angiotensina-aldosterona al anclar la molécula de angiotensinógeno (producida por el hígado); produciendo angiotensina I. Ésta última es convertida en angiotensina II por la enzima convertidora de angiotensina (ECA), producida en ciertos capilares pulmonares; la cual finalmente contrae los capilares sanguíneos (mediante la estimulación de los receptores beta adrenérgicos) e incrementa la concentración de aldosterona (producida por las glándulas suprarrenales).

La renina es sintetizada, almacenada y secretada en la circulación arterial renal por las células yuxtarglomerulares que se encuentran en las paredes de la arteriola aferente a su entrada en el glomérulo. Ésta y otros componentes de este sistema también se encuentran en el SNC.

La liberación de noradrenalina a partir de las terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares en respuesta a cualquier estímulo doloroso. Las prostaglandinas, en particular PGI<sub>2</sub> (7,41). El aumento de la liberación de renina causa un aumento en la post carga cardiaca.

- **Vasoconstrictor noradrenalina-adrenalina**

Al disminuir la PA se estimula el sistema nervioso simpático, éste estimula la secreción de noradrenalina y adrenalina de la médula suprarrenal, las cuales tienen mayor vida media y pasan al torrente circulatorio provocando en él los mismos efectos de la estimulación simpática directa.

Este mecanismo tiene la importancia de que ambas hormonas pueden llegar por la circulación a diferentes vasos muy pequeños que carecen de inervación simpática, como las metarteriolas y provocan su efecto vasoconstrictor con aumento de la RPT que produce aumento de la PA (7).

- **Vasoconstrictor vasopresina**

En la actualidad se piensa que este mecanismo puede compensar el breve período de latencia del mecanismo barorreceptor ya que en ausencia de éste, el efecto vasoconstrictor de esta hormona es tan potente que puede incrementar las cifras de la presión media entre 30-35 mm de Hg por lo que su efecto aumenta la RPT.

La vasopresina no solo tiene este efecto sino que además tiene una acción directa sobre los riñones para disminuir la excreción de agua por lo que recibe el nombre de hormona antidiurética (ADH) (7).

### **c) Mecanismos a largo plazo (horas y días):**

El sistema fundamental para el control de la PA a largo plazo lo es el mecanismo renal de los líquidos corporales. Este mecanismo tiene un elemento central o propio que es la diuresis o natriuresis por presión. Sin embargo se han añadido a este sistema básico múltiples y refinados mecanismos que lo hacen más eficaz y preciso (7).

## **C. Hipertensión arterial (HTA)**

Se acepta como HTA a la elevación crónica de una o de las dos presiones arteriales sistólicas o diastólicas (OMS). Se trata de un trastorno muy frecuente, a menudo asintomático, caracterizado por la elevación mantenida de la presión arterial por encima de 140/90 mm de Hg. Carece de causa identificable, si bien el riesgo de padecerla aumenta con la hipercolesterolemia, la obesidad, entre otros (8).

### **1. Clasificación**

La HTA se puede clasificar de tres maneras distintas:

a) **Por el nivel de la lectura de la PA**

Como se puede observar en las tablas 1 y 2 se presentan los rangos de PA (Presión arterial) sistólica y diastólica para clasificar el estadio de la misma.

**Tabla 1.** *Nivel de lectura de la presión arteria diastólica*

<b>Presión arterial (mmHg)</b>	<b>Categoría</b>
<85	PA normal
85-89	PA normal alta
90-99	HTA ligera (estadio I)
100-109	HTA moderada (estadio II)
>110	HTA severa (estadio III)

**FUENTE:** Sociedad Argentina de Hipertension Arterial, 2,004, Disponible en [http// www.saha.org.ar/](http://www.saha.org.ar/) - 2k -,

Consultado en Mayo del 2,005

**Tabla 2.** *Nivel de lectura de la presión arteria sistólica*

<b>Presión arterial (mmHg)</b>	<b>Categoría</b>
<130	PA normal
130-139	PA normal alta
140-159	HTA ligera (estadio I)
160-179	HTA moderada (estadio II)
180	HTA severa (estadio III)

**FUENTE:** Sociedad Argentina de Hipertension Arterial, 2,004, Disponible en [http// www.saha.org.ar/](http://www.saha.org.ar/) -

2k -, Consultado en Mayo del 2,005

b) **Por la importancia de las lesiones orgánicas:**

- i. **Fase I:** No se aprecian signos objetivos de alteración orgánica.
- ii. **Fase II:** Aparecen por lo menos uno de los siguientes signos de afección orgánica.

La hipertrofia ventricular izquierda (HVI) es detectada por rayos X, electrocardiograma (EKG) y eco cardiografía, estrechez focal y generalizada de las arterias retinianas, proteinuria y ligero aumento de la concentración de creatinina en el plasma o uno de ellos (8).

**iii. Fase III:** Aparecen síntomas y signos de lesión de algunos órganos a causa de la HT en particular, tales como:

- Corazón: Insuficiencia ventricular izquierda (IVI).
- Encéfalo: Hemorragia cerebral, cerebelar o del tallo encefálico: Encefalopatía hipertensiva.
- Fondo de ojo: Hemorragia y exudados retineanos con o sin edema papilar. Estos son signos patognomónicos de la fase maligna (acelerada) (8).

### **c) Por la etiología**

#### **i. Primaria**

La HTA primaria, idiopática o esencial, se dice que aproximadamente del 90 al 95 por ciento de todas las personas que presentan HTA tienen HTA primaria. Este término significa simplemente que no se conoce causa orgánica evidente.

Recientemente la OMS está considerando que se han acumulado suficientes conocimientos sobre las causas de la HT, lo cual justificaría abandonar el término de esencial y utilizar mejor el de primaria.

La etiopatogenia no se conoce aún pero los distintos estudios indican que los factores genéticos y ambientales juegan un papel importante en el desarrollo de la HTA primaria.

La obesidad y el hábito de fumar se plantean por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) que pueden intervenir para explicar entre el 10 y el 15 por ciento de las variaciones de este fenómeno en la población general (9).

## **ii. Secundaria**

Es la hipertensión de causa conocida, aproximadamente se encuentra entre el 5 y el 10 por ciento. Es importante diagnosticarla porque en algunos casos pueden curarse con cirugía o con tratamiento médico específico.

Estos pueden ser por carga de volumen con aumento del líquido extracelular (LEC), por vasoconstricción que da un aumento de la RPT, por combinación de sobrecarga de volumen y vasoconstricción (10).

## **2. Efectos de la HTA en el cuerpo**

La HTA puede ser lesiva por efectos primarios:

### **a) Aumento de trabajo del corazón**

Hipertrofia con aumento del peso de dos a tres veces, aumenta el riesgo coronario paralelo al aumento del tejido muscular. Por lo tanto se desarrolla isquemia del ventrículo izquierdo, a medida que aumenta la HTA, esta puede ser suficientemente peligrosa para que la persona sufra angina de pecho. La presión muy elevada en las arterias coronarias desarrolla aterosclerosis coronaria de manera que pueden morir por oclusión coronaria (11).

### **d) Lesión de las propias arterias por la presión excesiva**

La presión elevada de las arterias no solo origina esclerosis coronaria, sino también esclerosis de los vasos sanguíneos. El proceso arteriosclerótico hace que se desarrollen coágulos de sangre en los vasos y también que estos se debiliten. De esta forma los vasos sufren trombosis, o se rompen y sangran gravemente (11).

En estos casos pueden producirse graves lesiones en todos los órganos de la economía. Los dos tipos de lesiones más importantes que ocurren en la hipertensión son los siguientes: Hemorragia cerebral, o sea hemorragia de un vaso del cerebro, que destruye zonas locales de tejido encefálico y hemorragia de vasos renales dentro del órgano, que destruye grandes zonas de riñones y

por tanto origina trastornos progresivos de los mismos aumentando más todavía la hipertensión (11).

#### **D. Lípidos y lipoproteínas**

Los lípidos son sustancias orgánicas, que desempeñan en el organismo funciones muy diversas. Existen distintos tipos de lípidos, pero todos poseen estructuras no polares hidrocarbonadas que los hacen insolubles en el agua, por lo que requieren de un medio de transporte proteico. Aunque existen diferentes proteínas específicas para el transporte de ciertos lípidos como es el caso de la transcortina, son las proteínas las micro emulsiones responsables de la movilización de la inmensa mayoría de ellos a través del torrente circulatorio (10, 12).

La movilización se realiza desde la absorción en el intestino delgado de los lípidos, hasta los órganos de depósito (tejido adiposo, tejido muscular, corteza suprarrenal, etc.) y desde el órgano de síntesis, el hígado, hasta los órganos periféricos donde serán utilizados (músculo cardíaco, músculo esquelético, tejido adiposo, etc.) (12).

#### **1. Metabolismo de los lípidos**

Los lípidos son clasificados como endógenos y exógenos, los primeros son aquellos que son producidos por el organismo y los exógenos son aquellos que se consumen con una dieta balanceada (12).

##### **a) Lípidos exógenos**

Son los lípidos que son consumidos en la dieta. Estos son incorporados al cuerpo en tres fases: digestión, absorción y transporte. La fase de digestión se lleva a cabo en el lumen del intestino, en él las sales biliares separan las grandes masas de lípidos y las enzimas los hidrolizan hasta ácidos grasos libres. Durante la fase de absorción, las partículas de lípidos digeridos penetran en las células de la mucosa intestinal y posteriormente el sistema

linfático y circulatorio. En esta etapa, la naturaleza del mecanismo de transporte de lípidos depende del tipo de molécula que se transporta. Los ácidos grasos de cadena corta e intermedia se unen a la albúmina y se transportan en la circulación portal, mientras que los ácidos grasos de cadena larga se empaquetan en quilomicrones en las células de la mucosa y son liberados al conducto torácico del sistema linfático para después penetrar al sistema circulatorio (12).

### **b) Lípidos endógenos**

El organismo produce la mayor parte del colesterol en forma endógena. Las fuentes dietéticas aportan tan sólo de 150 a 300mg diarios mientras que el hígado sintetiza 1.5 gramos al día (13).

El exceso de carbohidratos y proteínas de la dieta se utiliza para producir moléculas de acetato, que posteriormente sirven para producir colesterol y ácidos grasos. Los lípidos endógenos que genera el hígado son transportados posteriormente en forma de lipoproteínas para su uso en todo el cuerpo (13,14).

## **2. Apolipoproteínas**

Las apolipoproteínas (Apo) son componentes estructurales de las lipoproteínas plasmáticas, que juegan un papel importante en la regulación del metabolismo. De las nueve apolipoproteínas que se conocen, todas difieren en su contenido de aminoácidos y su peso molecular; su concentración plasmática en individuos sanos se encuentra en el rango de 0.03 a 0.15 g/L (13).

Las apolipoproteínas poseen una conformación molecular típica conocida como "alfa hélice anfipática", en la que su porción hidrofóbica integra un alto contenido de aminoácidos no polares y su porción hidrofílica integra los residuos polares de los aminoácidos que son abundantes. Cada estructura es esencial para la integridad de la lipoproteína, para que sea capaz de

interaccionar con los lípidos en la porción hidrofóbica de las moléculas de lipoproteínas e interaccionar simultáneamente con el ambiente acuoso (13).

En síntesis se trata de la fracción que queda de los complejos lipoproteicos tras eliminar los lípidos. Siguiendo la nomenclatura propuesta por Aulapovic *et al*, se les designa por las letras A, B, C, etc. Subclasificadas a su vez en diferentes subtipos (14).

Sus funciones principales incluyen:

**a) Mantenimiento de la estructura de la lipoproteína**

Con fijación de los lípidos gracias a la interacción que presentan con los fosfolípidos, formando complejos estables que son capaces de solubilizar y transportar a los triglicéridos y a los ésteres de colesterol (12).

Esta función la realizan principalmente las apoproteínas del grupo B (Apo B<sub>100</sub> y Apo B<sub>48</sub>). Además, al aumentar la densidad de la lipoproteína, disminuye su flotabilidad (14,15).

**b) Regulación de la actividad de los enzimas claves**

Que intervienen en el metabolismo de las proteínas dentro del torrente circulatorio, así la Apo A-I y la Apo C-I se requieren específicamente para activar el enzima lipoproteinlipasa (14).

**c) Reconocimiento de superficie**

Que se une a las lipoproteínas con determinados receptores específicos de la superficie celular (14).

Cabría añadir que su presencia aumenta la densidad de la estructura micelar y con ello disminuye su índice de flotabilidad, haciendo que las lipoproteínas presenten una densidad similar a la del suero, en el que se desenvuelven y con ello, ni decanten ni floten. Excepto las apoproteínas del grupo B que no pueden pasar de un tipo de lipoproteínas a otro, debido a su alto peso molecular, el resto se encuentran en distintas proporciones en las

diferentes lipoproteínas, contribuyendo a dirigir su metabolismo en el organismo (14, 15).

#### **d) Apolipoproteína del grupo B**

Conforma el grupo de mayor peso molecular, que se encuentra constituido por dos isoformas: La Apo B<sub>48</sub> y Apo B<sub>100</sub> (16).

Se trata de un componente de proteína estructural imprescindible con gran peso molecular, presente en los quilomicrones, lipoproteínas VLDL y LDL, desempeña un papel central en el transporte de los lípidos a través del cuerpo.

Además de sus funciones normales de transporte, las Apo B son el marcador más importante de aterosclerosis en seres humanos (16).

Los altos niveles séricos de Apo B es un factor causal establecido, para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, es importante entender completamente la relación de la función y estructura de las apolipoproteínas del grupo B (16).

La apolipoproteína B<sub>100</sub> contiene 4536 residuos de aminoácidos y está integrada por 3 partes anfipáticas alfa-helicoidales que se alternan con 2 partes beta-helicoidales. Su peso molecular es de 549.000 daltons y corresponde al 98% de LDL; por lo que a medida que su nivel sérico aumenta, igualmente aumenta el riesgo cardiovascular (14, 16).

Debido a una modificación transcripcional del mRNA de la Apo B<sub>100</sub>, existe también en una forma truncada que contiene un NH<sub>2</sub> terminal, llamada Apo B<sub>48</sub>. En los seres humanos la Apo B<sub>48</sub> es convertida en el codón 2152 de CAA, a un codón stop UAA, la cual es producida solamente por el intestino. Es decir que la apolipoproteína B<sub>48</sub> está sintetizada a partir del mismo gen que la apolipoproteína B<sub>100</sub>, pero editada del RNA mensajero con un codón de stop (14).

La Apo B<sub>100</sub> juega un papel importante como molécula ligando, para LDL y su receptor. También participa en la regulación de los niveles de colesterol a nivel sanguíneo. Su catabolismo es principalmente hepático (16).

Las concentraciones plasmáticas de Apo B<sub>100</sub> se encuentran en el rango de 0.8 - 1.0 g/L en individuos normolipémicos. Su concentración es directamente correlacional con los valores de colesterol total y colesterol LDL.

Además tiene una afinidad por los receptores de LDL localizados en las superficies de las células en los tejidos periféricos e interviene en la deposición celular del colesterol (15, 17).

Únicamente hay una sola molécula de apolipoproteína B (sea B<sub>100</sub> o B<sub>48</sub>) por partícula lipoproteica: rodea toda la partícula, y su región hidrofóbica “se sumerge” en el corazón hidrofóbico, anclándola. Actúa como un ligando de receptor (14).

La Apo B<sub>100</sub> juega un papel importante en la determinación de riesgo cardiovascular debido a que la oxidación de la misma por productos de la peroxidación lipídica hace que ésta sea reconocida por la LDL, y sea captada por los macrófagos, lo que conduce a la formación de placas ateroscleróticas (15).

Según estudios realizados los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> aumenta en el sexo masculino entre las edades de 18 a 59 años, y tiende a decrecer en grupos de mayor edad, es decir mayor de 59 años (14,16).

En el caso del sexo femenino los niveles séricos de la Apo B<sub>100</sub> incrementan continuamente con la edad. El sexo masculino presenta una concentración sérica de Apo B<sub>100</sub> mayor que las mujeres entre las edades de 20-49 años, situación que es inversa en grupos de mayor edad (16).

Los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> no se ven afectados por el peso corporal de los pacientes. Esta ha sido positivamente asociada al consumo de carne y

negativamente al consumo de pan, en hombres se asocia positivamente con el hábito del cigarrillo y la cerveza (14).

En la tabla 3 se presentan los valores deseables de Apo B<sub>100</sub> según grupo de edad y sexo.

**Tabla 3.** Valores absolutos deseables de Apo B<sub>100</sub>: según edad y sexo:

Grupos de de edad	Sexo Femenino (mg/dL)	Sexo Masculino (mg/dL)
20-29 años	71	75
30-39 años	76	88
40-49 años	88	98
50-59 años	101	100

**Fuente:** DURRINGTON PN.HUNT ISHOLA M. et. al: Serum apolipoproteins A I y B and lipoproteins in middle aged men with and without previous myocardial infarction. Br Heart J 1999; 56:206 -212.

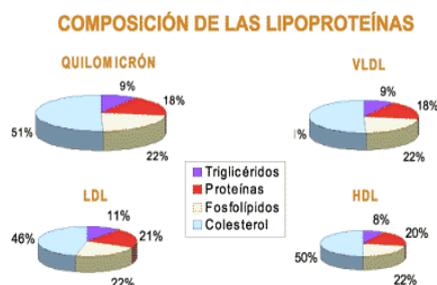
### 1. Generalidades y clasificación de las lipoproteínas

La mayoría de las lipoproteínas tienen forma de micro esferas en las que clásicamente se han definido dos zonas, la corteza formada por compuestos de naturaleza anfipática y un núcleo hidrófobo. En la corteza se encuentran los fosfolípidos (con su cabeza hidrófila hacia el exterior y sus colas hidrófobas hacia el interior), las moléculas de colesterol libre, sin esterificar y las apoproteínas o apolipoproteínas (con sus porciones hidrófobas ancladas en el núcleo y mostrando su porción globular hacia el exterior de la micro partícula). En el ambiente hidrofóbico del núcleo viajan las moléculas hidrófobas como triglicéridos y colesterol esterificado (18).

Toda la estructura se mantiene gracias a las interacciones de naturaleza hidrofóbica que se originan por el hecho de estar viajando todas ellas en un medio acuoso como es el plasma. Las diferentes lipoproteínas se han clasificado conforme a su disposición en un medio de densidad creciente entre 1.210 y 1.006 KBr y tras ser sometidas a ultracentrifugación de 144,000 veces la gravedad durante 24 horas en (19):

- **Quilomicrón (Qm):** Con densidad inferior a 0.96 g/mL. Son las de mayor tamaño y menor densidad. Transportan los lípidos de la dieta (principalmente triglicéridos) desde el intestino al resto del organismo (19).
- **VLDL (Very Low Density Lipoprotein, Lipoproteínas de muy baja densidad):** Con densidades en el rango de 0.96-1.003 g/mL. Lipoproteínas de muy baja densidad, compuestas en un 50 por ciento, por triglicéridos. Transportan los lípidos sintetizados en el hígado a otras partes del cuerpo (19).
- **LDL (Low Density Lipoprotein, Lipoproteínas de baja densidad) :** Con densidades en el rango de 1.006-1.063 g/mL. Lipoproteínas de baja densidad cuyo principal componente es el colesterol (50 por ciento). Circulan por todo el organismo transportando colesterol, triglicéridos y fosfolípidos y dejándolo disponible para las células (19).
- **HDL (High Density Lipoprotein, Lipoproteínas de alta densidad):** Con densidades en el rango de 1.063-1.021 g/mL. Transportan el colesterol desde las células al hígado para ser eliminado (19).

**Gráfica 1: Composición de las lipoproteínas**



**FUENTE:** Packard, C. LDL Sub fractions and atherogenicity: an hypothesis from the university of Glasgow.

*Curr Med Res Op.*1996. No. 13. Pp.379-390

Además, existen algunas familias minoritarias, que se encuentran en situaciones fisiológicas como la obesidad por lo que normalmente no son detectables, y que pueden adquirir importancia en ciertas condiciones patológicas, entre las que se encuentra la diabetes mellitus (19).

- **IDL (Intermediate Density Lipoprotein, Lipoproteína de densidad intermedia)**

Con densidades en el rango 1.006-1.019 g/mL. Su detección está asociada con aterosclerosis precoz. Estas contienen cantidades iguales de colesterol, triglicéridos, Apo B<sub>100</sub> y E (19).

- **Lipoproteína A, Lp(a)**

Con una densidad de 1,055-1,085 g/mL. Es un complejo macromolecular que presenta en su estructura, elementos propios de las lipoproteínas con otros pertenecientes al sistema de la coagulación sanguínea.

Su composición es muy similar a la LDL, sus niveles plasmáticos correlacionan con la enfermedad arterial coronaria y cerebro vascular (19).

## **2. Formación de IDL y LDL a partir de VLDL**

Las Apo C-II activan LPL (lipoprotein lipasa) enzima que cataliza la hidrólisis de los triglicéridos, con lo que las VLDL se transforman en primer lugar en IDL y ocasionalmente en LDL sin llegar a quedar en el plasma (20).

Estas partículas poseen una menor cantidad de triglicéridos en su núcleo pero mantienen los ésteres de colesterol y el colesterol no esterificado de su superficie. Con ello se mantiene la Apo B<sub>100</sub> mientras que aumentan “relativamente” los ésteres de colesterol, el colesterol no esterificado y los fosfolípidos hasta llegar a las proporciones propias de las partículas que denominamos LDL .

La insulina facilita la hidrólisis de los triglicéridos ya que activa la migración de la LPL desde los adipositos hasta los proteoglicanos del endotelio vascular (19-21).

- **Catabolismo de las IDL y de las LDL**

Una vez degradada parcialmente en la periferia la VLDL, no va a ser captada tan eficientemente por el hígado y solo será procesada parcialmente por la LPL del hepatocito que la transformará en LDL y regresará como tal al plasma (19). Las partículas de LDL están conformadas por una molécula de Apo B<sub>100</sub> que ha cambiado de conformación con respecto a la que se encontraba presente en la VLDL, por fosfolípidos junto con colesterol no esterificado en su superficie. Su core hidrofóbico contiene básicamente ésteres de colesterol. No olvidemos que la estructura tridimensional de la proteína está determinada por el medio en el que se encuentra inmersa y éste, al poseer un volumen menor y una diferente composición cualitativa se ha modificado (19,21).

La finalidad de las LDL parece no ser otra que la de ser degradadas, puesto que todas las células del organismo pueden sintetizar su propio colesterol y tanto los quilomicrones como las VLDL o las HDL lo pueden intercambiar con sus membranas, de hecho, en los niños recién nacidos, cuando las necesidades de producción celular son las más elevadas, solo circulan de 0.5 a 1.0 mmol/L de colesterol en forma de LDL mientras que las cifras que se encuentran en adultos occidentales se mantienen en intervalos de 3 a 5 mmol/L (22,23).

El interés por su estudio se debe al indudable papel que supone en la patología aterosclerótica, cuando sus concentraciones plasmáticas están elevadas y no tanto al papel fisiológico que pudiera representar (22).

Las partículas de LDL, como ocurre con las de IDL son captadas por receptores proteicos específicos Apo B<sub>100</sub> y E o receptor de la LDL que se encuentran en depresiones que presentan acumulaciones de clatrina.

Como dichas depresiones se encuentran continuamente formando vesículas, cualquier molécula de LDL unida a sus receptores será internalizada (21).

Una vez formada la vesícula se acidifica su medio interno, con lo que la especificidad LDL- receptor disminuye y con ello, el receptor libera la partícula (21).

Este proceso se continúa con la digestión celular de las LDL, el reciclaje de los receptores y la correspondiente obtención de los aminoácidos procedentes de la Apo B<sub>100</sub> pero, sobre todo, da origen a importantes cantidades de colesterol que están a disposición de la célula (21).

Cuando estas cantidades son excesivas para las necesidades particulares de dicha célula, ésta responde deteniendo su síntesis endógena tanto la de colesterol como la de los receptores, con lo que se mantienen los niveles homeostáticos de la célula pero a cambio, los niveles plasmáticos aumentarán (22).

El principal órgano responsable, pero no el único, de la degradación de las LDL es el hígado y que procesa del 50 al 60% del colesterol que se encuentra en el plasma en forma de LDL (22).

Lo emplea en la síntesis de sales biliares secretando su exceso, en condiciones fisiológicas, por la bilis, donde sufrirá circulación entero hepática.

Le siguen las glándulas suprarrenales y las gónadas que lo utilizan como sustrato en la síntesis de las respectivas hormonas esteroideas (24,25).

## **E. Aterosclerosis**

La asociación entre anomalías del metabolismo de lípidos y la incidencia de enfermedades cardiovasculares es de todos bien conocida en base a los numerosos estudios epidemiológicos que se han documentado en relación del papel aterogénico que tiene LDL, así como también la acción protectora o anti-aterogénica del HDL (26).

La aterosclerosis es la lesión de la pared arterial debida a la formación de placas de ateroma en sus paredes, que se pueden revertir, no solo en su fase

inicial, sino también, aunque más lentamente, en ciertas formas avanzadas (26).

En su progresión se producen tres procesos celulares fundamentales:

1. Una entrada de monocitos/macrófagos con proliferación de macrófagos, células de músculo liso y quizás de linfocitos.
2. La formación de una matriz de tejido conjuntivo fibroso debido a la acumulación de las células de músculo liso.
3. Un almacenamiento de lípidos intra y extracelular, especialmente como colesterol libre y esterificado en los macrófagos y en las células musculares (27,42).

Para que el proceso comience, se exige el paso de la lipoproteína al espacio sub-endotelial cruzando el endotelio vascular (27).

Estudios experimentales *in vitro* realizados en diversos países de Europa han demostrado que la LDL del plasma no es capaz de inducir la formación de la placa de ateroma. Se precisa de transformaciones químicas como su oxidación y glucación que originen un cambio en su conformación que conlleve a un diferente comportamiento metabólico (27).

Las LDL así transformadas pasan a ser internalizadas por los macrófagos derivados de los monocitos, y por las células de la musculatura lisa dando lugar, ambas estirpes celulares a las células espumosas (28, 29).

Este fenómeno no se produce con la LDL normal que sigue la ruta del receptor Apo B<sub>100</sub> porque cuando la concentración en el exterior de las células es muy alta, éstas se protegen inhibiendo la síntesis del receptor, con lo que no penetran las partículas al citoplasma. Cuando se sobrepasa la capacidad de utilización de colesterol por parte de estas células, el colesterol libre, al exceder ciertas concentraciones se hace citotóxico y el macrófago se defiende de esta situación acumulándolo en vacuolas, lo que lo transforma en el tipo de células que denominamos células espumosas debido al aspecto que adquieren al presentar dicha vacuolización. Este mecanismo defensivo tiene su límite. Una vez sobrepasado se produce su lisis con el correspondiente vertido del

colesterol al exterior lo que se piensa que da origen de los centros necróticos que se observan en las placas (30, 31).

### **1. Hiperlipemias, hiperlipoproteínemias y dislipemias**

- La hiperlipemia (HLP) es la elevación plasmática de las concentraciones de colesterol y triglicéridos o ambos.
- Las hiperlipoproteínemias son trastornos del transporte de los lípidos que se producen debido a una anomalía en la síntesis o en la degradación de las lipoproteínas plasmáticas.
- Como dislipemia se denomina a aquellas alteraciones de los lípidos plasmáticos que suponen una elevación del colesterol total y del transportado por las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL), con aumento de la trigliceridemia y el descenso del colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) (30).

Uno de los problemas que surgen cuando se plantea el tratamiento de esta patología es la determinación de las concentraciones que se deben considerar fisiológicas (28).

El criterio estadístico tiene escasa importancia en la búsqueda de la prevención de las enfermedades de origen arteriosclerótico puesto que, el valor más frecuente, no es sinónimo de saludable y los objetivos no serán los mismos en un sujeto con antecedentes de patología aterosclerótica que si estos no existen o si coexisten otros factores de riesgo, que cuando éstos están ausentes (30).

Con el objetivo terapéutico se establece una concentración de colesterol LDL menor de 130 mg/dL para la prevención primaria de los pacientes de alto riesgo (32).

En la prevención secundaria, el objetivo terapéutico será a una concentración de LDL menor que 100 mg/dL (32).

## 2. Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP)

En 1,985 nace en los Estados Unidos el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol, al aumentar el índice de mortalidad por infarto agudo al miocardio. El fin de dicho programa es incrementar el conocimiento de la población de la relación entre altos niveles de colesterol en sangre y el riesgo de desarrollar enfermedades coronarias (33).

El programa está conformado por profesionales de la salud en los que se incluyen: Expertos en la detección, evaluación y tratamiento de niveles elevados de colesterol en sangre tanto en adultos como en niños, laboratorios estandarizados para la medición y reporte de las evaluaciones de medición del colesterol y un grupo de investigadores que trabajan en la medición de las lipoproteínas elaborando las recomendaciones y guías para mejorar la detección del LDL y HDL (33).

Actualmente este programa contiene la información más reciente sobre lo relacionado al colesterol en sangre, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere que todas las recomendaciones y guías que el NCEP propone deben ser tomadas como estrategias en los distintos programas de salud a nivel mundial, a continuación se presentan los niveles deseables de colesterol en la sangre. La tabla 4 presenta los valores deseables de colesterol en sangre según las guías del NCEP. (33).

**Tabla 4.** Niveles deseables de colesterol en la sangre

Variable	Nivel
Colesterol total	< 200 mg/dL
Triglicéridos	< 200 mg/dL
Colesterol-LDL	< 150 mg/dL
Colesterol-HDL	> 35 mg/dL

**FUENTE:** MedicinaTV.com: Factores de riesgo asociados a la enfermedad cardiovascular, 1,999, Disponible en [http://salud.medicinatv.com/webcast/muestra.asp?id\\_wc=725 - 24k](http://salud.medicinatv.com/webcast/muestra.asp?id_wc=725 - 24k) – Consultado en Mayo del 2,005

En el anexo 3 se presentan algunas recomendaciones para hipertensos con niveles séricos de colesterol total elevado (11).

## **F. Métodos de determinación**

La determinación de la masa de las lipoproteínas, a la que contribuyen tanto las proteínas como los lípidos que la componen, requieren de técnicas sofisticadas como la ultracentrifugación, que se basa en la separación de las partículas con respecto a su diferencia de densidad, la que puede realizarse en suero o plasma. La primera fracción que flota son los triglicéridos, quilomicrones y VLDL y la segunda es el LDL, HDL y IDL. La adición de sales como KBr y la ultracentrifugación hace que floten las LDL. Debido a que esta técnica es tediosa ya que se realiza en varios pasos y demanda mucho tiempo es casi imposible de emplear en las determinaciones analíticas de rutina (34).

Actualmente, se requiere cada vez más las determinaciones de Apo B<sub>100</sub> como complemento para identificar mejor a los sujetos que tienen elevado el riesgo a padecer una patología cardiovascular (35,36).

Algunos autores recomiendan que en sujetos con predisposición a patologías asociadas al metabolismo de lípidos, que pueden llegar a presentar variaciones fisiológicas en la concentración del colesterol hasta de un 6.5%, se realicen diferentes determinaciones tomadas a lo largo de varias semanas, con el fin de encontrar la concentración habitual en el sujeto que es objeto de estudio y no una única determinación que puede dar valores normales en este tipo de pacientes (37).

### **1. Colesterol total**

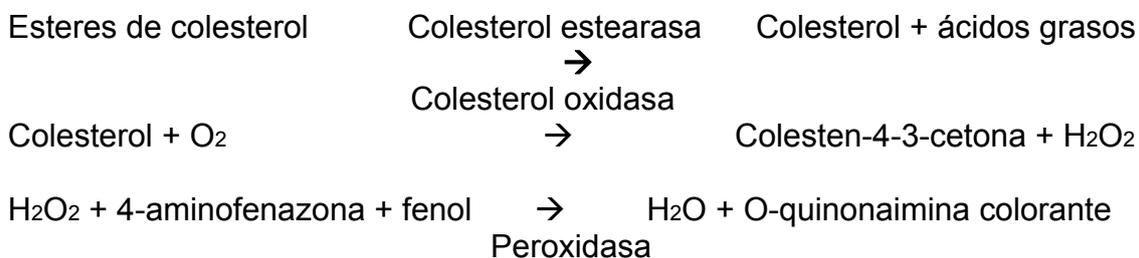
El método más empleado para su determinación es el colorimétrico enzimático. Se emplea una serie de reacciones acopladas que partiendo del éster del colesterol del suero, lo transforman en colesterol libre (si se suprime este paso se obtienen los valores de colesterol no esterificado) y éste junto con el no esterificado presente en la muestra, por acción de la enzima colesterol oxidasa y en presencia de oxígeno de la atmósfera, da lugar a un derivado del colesterol (Coolest-4-en-3-ona) y una molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (38).

Esta molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> junto con el fenol y 4-aminoantipirina y en presencia de una peroxidasa forma un compuesto coloreado quinoneimina que absorbe la luz a 540 nm.

La concentración de la quinoneimina es proporcional a la que existe de colesterol lo que hace que la intensidad del color sea proporcional a su concentración (38).

La presencia en la muestra de concentraciones significativas de compuestos reductores como la bilirrubina o el ácido ascórbico consumen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lo que interfiere en las determinaciones. Además, la bilirrubina (>5 mg/dL) absorbe luz a 500 nm, lo que puede interpretarse como un falso aumento en la concentración de colesterol.

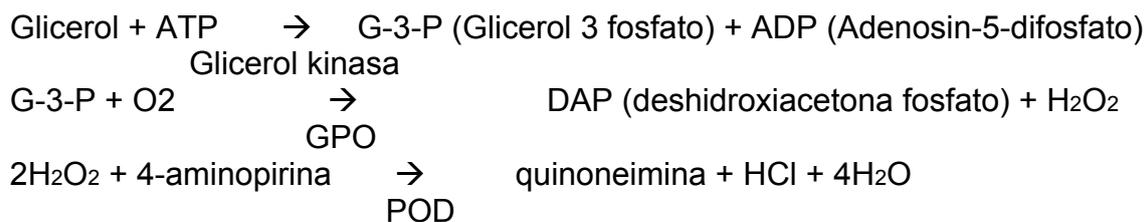
Este método es bastante preciso, con un coeficiente de variación que oscila entre 1 y 2% (38).



## 2. Triglicéridos

Los métodos empleados actualmente de modo habitual son de tipo colorimétrico con empleo de enzimas específicas. El método es similar al anterior con la diferencia que, la última reacción acoplada produce NAD<sup>+</sup>, que absorbe luz en el rango de 500-600 nm (39).

Dependiendo del fabricante que provea de los reactivos y empleando las indicaciones que le facilitan se han obtenido un coeficiente de variación que varían desde 3% hasta 10% (39).



### 3. Colesterol HDL

Los quilomicrones, VLDL y LDL son precipitados por adición de ácido fosfotungstenico e iones magnesio. Luego de la centrifugación, la fracción HDL está contenida en el sobrenadante. La cuantificación posterior se realiza utilizando el reactivo para determinar colesterol (45).

Por el método de precipitación de iones bivalentes para precipitar las lipoproteínas más grandes, menos densas; las HDL se determinan en el sobrenadante como colesterol-HDL. Dentro de estos métodos se encuentran la determinación por medio de heparina-cloruro (45).

### 4. Lipoproteínas

Los métodos que son actualmente utilizados para la separación de las lipoproteínas incluyen la ultracentrifugación, adsorción, filtración en gel, cromatografía, electroforesis, precipitación, procedimientos inmunoquímicos y varias combinaciones de los mismos (40).

Algunos de los métodos mencionados con anterioridad requieren equipo especial, y en su mayoría no son de fácil aplicación para su uso habitual en el laboratorio clínico (40).

- Ultracentrifugación

El método de ultracentrifugación en gradiente de densidades se basa en el hecho de que todas las proteínas plasmáticas tienen una densidad aproximada de 1,350 g/mL con excepción de las lipoproteínas que presentan densidades menores.

Si se las somete a una ultracentrifugación de 100.000 g la fuerza centrífuga actúa como si se incrementara mucho la fuerza de la gravedad y, todas las proteínas presentes en el suero, excepto las lipoproteínas se depositarán en el fondo del tubo, mientras que dichas lipoproteínas formarán una capa superficial opalescente (37).

- **Electroforesis**

La electroforesis puede ser ampliamente utilizada en el laboratorio clínico para la separación de las lipoproteínas, el gel más comúnmente utilizado es el de agarosa, debido a su alta sensibilidad y resolución para la separación de las mismas, los quilomicrones, si estuvieran presentes, se pueden observar en el origen, las demás lipoproteínas migran en el siguiente orden HDL mayor que VLDL mayor que LDL (37, 41).

## **5. Apolipoproteínas**

Existen ciertas evidencias que parecen demostrar como la determinación de Apo B<sub>100</sub> representa mejores discriminantes del riesgo para padecer una enfermedad aterosclerótica que cuando se analizan lípidos o lipoproteínas (43).

Hoy en día los métodos inmunoquímicos se han ampliado y apreciado en el laboratorio clínico por su sensibilidad, especificidad y calidad. Las principales técnicas para valorar y cuantificar las apolipoproteínas Apo A-I y Apo B<sub>100</sub> incluyen:

- a) Radioinmunoensayo (RIA)
- b) Inmunoenzimáticas (ELISA)
- c) Inmunodifusión radial (RID)
- d) Electroinmunodifusión (EID)
- e) Nefelometría (INA)
- f) Inmunoturbidimetría (ITA) (43).

Estos métodos no están libres de la crítica. El problema principal es que las apolipoproteínas no están presentes en el suero en forma aislada, sino como grandes partículas químicamente heterogéneas. Esto provoca respuesta

variable, a veces significativa, dependiendo de las características de las muestras (normolipemia o hiperlipemia) del anticuerpo empleado, así como también del material de calibración (43).

Al emplear un anticuerpo en la identificación de una proteína específica se permite una medición más exacta aunque se encuentre en un medio que contenga otras proteínas sin la necesidad de una separación o purificación preliminar.

La especificidad del anticuerpo dirigido hacia la apolipoproteína depende notablemente del inmunógeno empleado o de la apolipoproteína purificada (43).

El rápido desarrollo de varios métodos de inmunoensayo ha generado un gran número de datos y de observaciones, aunque algunos discordantes por la naturaleza y reactividad de los calibradores empleados (43).

Desafortunadamente en la actualidad, los laboratorios clínicos carecen de un método más simple, no inmunológico, con el fin de establecer adecuadamente la estabilidad de la concentración plasmática de apolipoproteínas, con el cual puedan ser frecuentemente referidos los resultados obtenidos (43).

En relación a la precisión analítica del inmunoensayo, es inferior respecto a otras técnicas, el coeficiente de variación (CV) generalmente está arriba del 2% para los resultados obtenidos en una misma corrida y se incrementa del 7-8% en aquellos que son procesados en diferentes corridas (43).

La imprecisión se debe no sólo a los reactivos (anticuerpos policlonal), los cuales muestran diferente avidéz, especificidad y afinidad hacia el antígeno, sino también a la predilección de la muestra y al procedimiento analítico, en la tabla se pueden observar los métodos para la valoración de apolipoproteínas (43).

La tabla 5 presenta los diferentes métodos para valoración de apolipoproteínas, presentando las ventajas de cada uno de ellos.

**Tabla 5.** Métodos para la valoración de Apolipoproteínas

Método	Específico	Fácil manejo	Equipo especial	Procesamiento de Muestra
Radioinmunoensayo	Si	No	Contador de centelleo	Pre-tratamiento y dilución deshecho
Inmunoenzimático	Si	No	Lavadores, lectores	Pre-tratamiento y dilución
Difusión radial	Si	Si	Placas agar	Evitar congelar y descongelar repetidas veces por el tiempo de vida útil del suero del paciente
Electroinmunoensayo	Si	No	Cámara electroforesis	Pretratamiento
Nefelometría	Si	Si	Nefelómetro	Dilución
Inmunoturbidimetría	Si	Si	Espectrofotómetro	Directo

**FUENTE:** Duerschmidt, N, *et al.* Angiotensin II Induces LOX-1, the Human Endothelial Receptor for Oxidized Low Density Lipoprotein Circulation. 1999. No.100. pp. 899-902

### a) Determinación de Apolipoproteína B<sub>100</sub> por el método de inmunodifusión radial de *Diffuplate*® (Biocentifica SA.)

#### i. Principio de la prueba

La inmunodifusión radial se basa en la difusión de una muestra conteniendo el antígeno a medir en una matriz semisólida de agarosa. Una cantidad medida de muestra se introduce en los orificios cilíndricos excavados en el agar (40).

A medida que el antígeno difunde, los complejos antígeno-anticuerpo forman precipitados visibles (40).

Una vez finalizada la difusión se mide el diámetro de los precipitados que es proporcional a la concentración de antígeno (43).

## **G. Significado clínico de la medición de las apolipoproteínas**

En el año de 1979 P. Avogaro fue el primero en demostrar la utilidad de la determinación de las apolipoproteínas para identificar sujetos con elevado riesgo cardiovascular. La concentración plasmática de Apo A-I se encuentra reducida un 15% y la concentración de Apo B<sub>100</sub>, incrementada 43% en pacientes con infarto al miocardio, cuando son comparadas con la concentración de individuos sanos control (42).

La relación Apo A-I/B<sub>100</sub> (relación entre apolipoproteínas anti-aterogénicas y aterogénicas) fue reducida un 40% en pacientes con infarto al miocardio, estos niveles y su relación manifiestan un valor discriminante entre pacientes normales y en riesgo cardíaco, con mayor evidencia y claridad que los parámetros clásicos lipídicos y lipoproteicos. En diversos estudios se ha confirmado la disminución, a veces moderada, de Apo A-I y el incremento marcado y constante de los niveles de Apo B<sub>100</sub>, en pacientes con infarto al miocardio y que generalmente manifiestan complicaciones vasculares (43).

Consecuentemente, la relación Apo A-I/B<sub>100</sub> es considerada por muchos autores como un índice poderoso de riesgo coronario (43).

La evaluación de apolipoproteínas en pacientes sujetos a una angiografía coronaria ha indicado la existencia de una fuerte correlación de los valores Apo A-I y Apo B<sub>100</sub> como el marcador coronario que refleja un deterioro del sistema arterial (43).

La relación Apo A-I/B<sub>100</sub> debe usarse no únicamente para identificar a sujetos con riesgo coronario, sino también como un índice importante de la severidad y progreso de la enfermedad aterosclerótica (28,43).

Otras evaluaciones de apolipoproteínas que se han adicionado a las clásicas determinaciones de Apo A-I y Apo B<sub>100</sub> durante años, son los análisis de Apo A-II y Apo E, pero hasta el momento no existe una correlación de resultados para definir un riesgo cardiovascular (4, 43).

Otras razones para evaluar las apolipoproteínas y que otorguen información de utilidad clínica, es que la apolipoproteína es el mejor índice para estimar el número de partículas en la circulación sanguínea, particularmente importante en el caso de los pacientes con hipertrigliceridemia en el que las lipoproteínas tales como LDL y HDL manifiestan alto contenido de triglicéridos, por lo que exhiben menor cantidad de colesterol, en consecuencia, el resultado de HDL-colesterol es erróneamente interpretado (43).

La determinación de la concentración de Apo A-I proporciona información más exacta para estimar el nivel de HDL en el paciente, y la determinación de Apo B<sub>100</sub> para el valor de las LDL del paciente (43).

La determinación de Apo A-II y la relación A-I/A-II es una valoración alternativa a la difícil metodología de ultracentrifugación recomendada para estimar las fracciones de HDL (43).

La determinación de apolipoproteínas es un marcador específico para distinguir las anomalías del metabolismo de lípidos. En el caso de una hiperapobetalipoproteinemia, que es un trastorno asociado al alto riesgo coronario, la concentración plasmática de Apo B<sub>100</sub> está elevada en presencia de niveles normales de colesterol total y colesterol LDL (43).

#### **H. Problemas prácticos en el análisis de apolipoproteínas**

La utilidad clínica de la determinación de apolipoproteínas consiste principalmente en la identificación del riesgo cardiovascular y en determinar la condición del metabolismo individual, pero existen algunos aspectos técnicos que son importantes de considerar, dependiendo de las características de la metodología que se emplee para su evaluación (40).

El primer punto a considerar es que algunas características de las lipoproteínas pueden afectar la determinación de las apolipoproteínas (43).

Las lipoproteínas son un sistema heterogéneo en el que las apolipoproteínas están distribuidas en forma variable en partículas de diferente tamaño y estructura (43).

Por esta condición, es importante que los métodos empleados para la determinación de los niveles de apolipoproteínas sean capaces de reconocer y cuantificar las apolipoproteínas contenidas en las distintas partículas de lipoproteínas (40,43).

Las lipoproteínas tienden a agregarse *in vitro*, condición que puede manifestarse como una desventaja para la conservación de la muestra o la adecuada preparación de un estándar (43).

Finalmente, el verdadero problema consiste en establecer los valores normales, así como anormales para las diferentes apolipoproteínas. Los métodos actuales de análisis deberán estandarizarse y establecerse niveles internacionales de referencia como requisitos para alcanzar esta meta clínica (43).

## **I. Estudios realizados**

En una publicación de Brown *et. al* (1988), evalúa diferentes procedimientos para la obtención de sangre y los posibles efectos en la determinación de la Apo A-I y Apo B<sub>100</sub> por el método de Radioinmunoensayo (RIA). Las variables probadas fueron:

1. El tiempo que transcurre entre la obtención del espécimen sanguíneo y la separación del plasma (el cual puede ser de importancia en los estudios epidemiológicos donde la muestra se obtiene lejos del laboratorio) (43).
2. La presencia de los inhibidores de proteasas (necesarias para mantener la integridad estructural de la Apo B<sub>100</sub>) (43).
3. La conservación de la muestra a -70°C por seis semanas (43).
4. La adición de varios conservadores o aditivos al plasma tales como antibióticos, bacteriostáticos y antimicóticos (los cuales pueden servir para proteger la integridad de la Apo A-I durante su congelación y su descongelación) (43). Los resultados de este estudio no mostraron efectos notables por las diferentes variables; antes mencionadas; los

autores señalan que esta conclusión es aplicable únicamente al método de RIA (43).

El mismo estudio también fue realizado por Albers *et. al.* (1980) en donde se discutió la conservación de las muestras para la determinación de Apo A-I y Apo B<sub>100</sub> mediante el método de Inmunodifusión Radial (RID), las conclusiones en este caso indicaron que la muestra puede ser conservada a 4°C por un mes y medio, y en el caso de estar libre de contaminación bacteriana es estable durante 2-3 años a 20°C (43).

De estudios realizados por diferentes autores y mencionado por S. Marcovina y J. Albers (Viena, abril 1989) "Reporte de estandarización para la determinación de la apolipoproteína A-I y B<sub>100</sub>" (Viena, abril 1989), deriva: que en los métodos de Nefelometría (INA) e Inmunodifusión Radial (RID) al emplear un anticuerpo mono o policlonal no se afectan por la presencia del anticoagulante (heparina o EDTA); sin embargo, la muestra sérica es la más recomendable porque el plasma presenta un decremento del 3 al 4% en los resultados por la dilución de la muestra (plasma) a consecuencia de la salida del líquido intracelular, la cantidad de anticoagulante utilizada y el efecto de la congelación y la descongelación en donde se activa la formación de fibrina (40,43).

La concentración de ambas apolipoproteínas en las muestras no cambia significativamente después de ser conservadas 18 días a 4°C. Por el contrario, cuando las muestras almacenadas por 6 meses a -20°C ó -70°C y analizadas por nefelometría muestran cambios significativos en la concentración, mientras que los resultados por inmunodifusión radial son constantes aún después de ser conservadas un año en las mismas condiciones (40).

Al emplear el método de Inmunoturbidimetría (ITA), la conservación de las muestras por dos meses a -20°C ó -70°C no afectan la concentración de Apo A-I y Apo-B<sub>100</sub> (43).

Por los antecedentes y estudios mencionados se ha observado que la conservación de las muestras, pre-tratamiento y dilución pueden ser un factor

de interferencia en la determinación de apolipoproteínas por algunos métodos inmunoquímicos existentes (40).

Por otro lado, el método de Inmunoturbidimetría posee alta estabilidad de reactivos, características de operación, fácil instrumentación y la posibilidad de usar la misma curva de calibración por varios días sin que exista un error significativo, permitiendo el rápido procesamiento de las muestras, evitando el riesgo inherente a los procesos de conservación (40,43).

Todos los factores deben ser considerados para asegurar la calidad de los resultados y que éstos reflejen fielmente la condición clínica y fisiológica del paciente, para cumplir con el principal objetivo y/o misión de todo laboratorio clínico, que es velar por la salud del paciente (43).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial y la hipercolesterolemia están considerados entre los más importantes factores de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Su importancia radica su efecto acelerador de la aterosclerosis que se potencia de forma exponencial cuando se presentan en un mismo sujeto. Es así que el aumento en los niveles séricos de colesterol incrementa de forma gradual y continúa el riesgo vascular del hipertenso, además de contribuir al desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial.

La coincidencia de ambas enfermedades no es producto de la casualidad, sino consecuencia de una serie de interrelaciones comunes entre ambos procesos.

El riesgo de aparición de complicaciones cardiovasculares es gradual y directamente proporcional tanto a los niveles de presión arterial como a los de colesterol total y/o colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol). Por el contrario esta relación de riesgo es inversa al nivel de HDL-colesterol.

La determinación de Apo B-100 proporciona una herramienta clínica confiable para identificar los pacientes con un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular, los cuales no podrían ser identificados fácilmente mediante las determinaciones convencionales de niveles séricos de colesterol.

De acuerdo a las especificaciones del programa Americano de Educación del Colesterol (NCEP) la apolipoproteína B<sub>100</sub> es el mejor índice para estimar el número de partículas de colesterol en la circulación sanguínea; es por esta razón que se considera de importancia la medición de la Apo B<sub>100</sub> al paciente que cumple con los criterios de inclusión con el fin de profundizar en el conocimiento y manejo del riesgo a enfermedad cardiovascular.

Finalmente se debe enfatizar las tendencias de los últimos años en la investigación epidemiológica de las enfermedades cardiovasculares, que deberá encaminarse hacia la detección y manejo de pacientes de alto riesgo, valoración de programa de detección y protección de familias de pacientes de

alto riesgo y el refinamiento de los procedimientos diagnósticos para mejorar el valor predictivo, perspectivas que exigen una estrecha colaboración entre investigadores, clínicos y epidemiólogos. Para así poder brindar un tratamiento preventivo por parte del médico tratante a los pacientes que indiquen tener un mayor riesgo a enfermedad cardiovascular.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Determinar los niveles séricos de apolipoproteína B<sub>100</sub> como marcador de riesgo a enfermedades cardiovasculares en pacientes hipertensos.

### B. Específicos

1. Determinar el perfil lipídico en pacientes adultos hipertensos.
2. Determinar los niveles séricos de apolipoproteína B<sub>100</sub> (Apo B<sub>100</sub>), por el método de inmunodifusión radial en los pacientes que presentan niveles séricos disminuidos de HDL-colesterol y elevados de LDL-colesterol.
3. Correlacionar los niveles séricos de apolipoproteína B<sub>100</sub> (Apo B<sub>100</sub>), con los niveles séricos de LDL-colesterol, para determinar el riesgo a enfermedades cardiovasculares.

## **VI. HIPÓTESIS**

El presente estudio no lleva hipótesis porque se trata de un estudio descriptivo.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo y Muestra

#### 1. Universo de trabajo

Pacientes adultos, de sexo masculino.

#### 2. Muestra

La muestra la constituyeron 100 pacientes que asistieron al Laboratorio Clínico Diagnóstico Profesional, distribuidos de la siguiente forma:

50 pacientes hipertensos con valores séricos de HDL disminuidos y LDL aumentados y 50 personas sanas, definidas de la siguiente forma: Personas que no presenten evidencia de enfermedad aparente, que sean normotensos con valores séricos de colesterol HDL y LDL normales.

### B. Recursos

#### 1. Humanos

- Tesista / investigadora: Ingrid Mariela Wug Rodríguez
- Asesora: Licda. Alba Marina Valdés de García

#### 2. Institucionales

- Laboratorio Clínico Diagnóstico Profesional.
- Biblioteca Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Departamento de Bioquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala

### 3. Físicos

#### a. Equipo

- Centrífuga
- Congelador a -20°C.
- Fotómetro (Microlab 300)
- Incubadora a 37°C

#### b. Material de laboratorio

- Jeringas
- Algodón
- Alcohol
- Tubos de ensayo de 5 mL Vacutainer sin anticoagulante
- Tubos eppendorf de 1.5 mL
- Guantes desechables
- Etanol al 70%
- Palillos de madera
- Pipetas automáticas de 5  $\mu$ L a 10  $\mu$ L
- Tips plásticos blancos y amarillos
- Rollos de papel mayordomo
- Gradilla

#### c. Reactivos

- 9 placas de inmunodifusión radial de 12 determinaciones c/u de anti-Apo B<sub>100</sub>, DIFFU-PLATE (Biocientífica S.A.).
- Triglicéridos FS®, Dyasis
- Colesterol FS®, Dyasis
- HDL Precipitante FS®, Dyasis
- Control Trulab N®, Dyasis
- Control Trulab P®, Dyasis

#### d. Calibradores

- Calibradores Trucal U®, Dyasis

## **C. Metodología**

### **1. Recolección de la muestra**

Para la recolección de la muestra de los pacientes se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión. Se utilizó la boleta de consentimiento y recolección de datos (anexo No. 1)

- **Criterios de inclusión**

a) Para el grupo de estudio

Ser adulto: edad 25- 65 años

Sexo masculino

Presión arterial mayor de 90/140 mmHg.

Pacientes con ayuno de 12 a 14 horas.

Pacientes con niveles séricos de colesterol HDL menor de 40 mg/dL y colesterol LDL mayor de 150 mg/dL.

b) Para el grupo control

Ser adulto: edad 25-65 años

Sexo masculino

Presión arterial entre 60/100 – 85/130 mmHg.

Pacientes con ayuno de 12 a 14 horas.

Pacientes con niveles séricos de colesterol HDL entre 40-60 mg/dL y colesterol LDL menores de 150 mg/dL

- **Criterios de exclusión**

Se excluyeron pacientes con Diabetes Mellitus tipo II y con hábito de fumar.

- **Procedimiento**

Se extrajo 5 mL de sangre al paciente y se colocó en tubos de ensayo sin anticoagulante. Se separaron los sueros por centrifugación a 2,500 rpm por 10 minutos. Los sueros se almacenaron en tubos eppendorf de 1.5 mL en condiciones de congelación a -20°C hasta su procesamiento. El dato de la presión arterial, fue obtenido en el momento de la toma de muestra.

## 2. Determinación del perfil lipídico

La determinación de los niveles séricos de colesterol total y colesterol HDL se realizaron por método colorimétrico, utilizando control normal Trulab N®, Dyasis y control patológico Trulab P®, Dyasis además del calibrador Trucal U®, Dyasis.

### Procedimientos

#### a. Determinación de Colesterol Total (45)

- Se atemperaron los reactivos al menos por 30 minutos, antes de la evaluación.
- Se identificaron los tubos blanco, control y muestra del paciente.
- Se agregó a un tubo limpio e identificado 10 µL de agua destilada con 1000µL de reactivo (muestra blanco).
- Se mezcló 10µL de suero del paciente con 1000 µL de reactivo.
- Se mezcló 10µL de control (Trulab N) con 1000 µL de reactivo.
- Se incubaron los tubos durante 10 minutos a 37°C.
- Se leyó la absorbancia del blanco, las muestras y el control a 500 nm.
- Se leyó a 500 nm la absorbancia de la muestra y se anotó el resultado.

$$\text{Concentración de la muestra} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra} * \text{Concentración del estándar}}{\text{Absorbancia del estándar}}$$

#### b. Determinación de Triglicéridos (45)

- Se atemperaron los reactivos al menos 30 minutos antes de la evaluación.
- Se identificaron los tubos blanco, control y muestra del paciente.
- Se agregaron a un tubo limpio identificado 10 µL de agua destilada con 1000 µL de reactivo (muestra blanco).
- Se mezcló 10 µL de suero del paciente con 1000 µL de reactivo.
- Se mezcló 10 µL del control (Trulab N) con 1000 µL de reactivo.

- Se incubaron durante 10 minutos a 37°C.
- Se leyó la absorbancia del blanco, las muestras y el control a 550 nm.
- Se leyó a 550 nm la absorbancia de la muestra y anotar el resultado.

$$\text{Concentración de la muestra} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra} * \text{Concentración del estándar}}{\text{Absorbancia del estándar}}$$

#### c. Determinación del Colesterol HDL (47)

- En un tubo limpio identificado, se mezcló 200 µL del suero del paciente con 500 µL del reactivo precipitante (almacenado a temperatura ambiente).
- Se dejó reposar por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Se centrifugó la muestra durante 20 minutos a 2,500 rpm.
- Se separó del sedimento el 0.1 mL del sobrenadante transparente.
- Se leyó la absorbancia del sobrenadante a 550 nm, dentro de las dos horas posteriores.

$$\text{Concentración de la muestra} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra} * \text{Concentración del estándar}}{\text{Absorbancia del estándar}}$$

#### d. Colesterol LDL

Para la determinación de colesterol LDL se utilizó la fórmula de Friedewald (colesterol LDL= colesterol total – colesterol HDL – [Triglicéridos (en mg/dL)/5], cuando los niveles de triglicéridos sean menores de 400 mg/dL. En los casos atípicos que presentaron niveles séricos de triglicéridos arriba de 400 mg/dL, se realizaron diluciones para utilizar la fórmula de Friedewald.

### 3. Control de calidad:

El control de calidad interno de este estudio se realizó de la siguiente manera: Se procedió a utilizar los sueros control Trulab® N y P, Dyasis® para la prueba de Colesterol, Triglicéridos y Colesterol HDL. Los datos obtenidos de las muestras se consideran aceptados, si se encontraban dentro de más menos

dos desviaciones estándar y con un coeficiente de variación del 1 y el 2%, intra ensayo.

#### **4. Determinación de Apolipoproteína B<sub>100</sub> por el método de inmunodifusión radial de *Diffuplate*®**

##### **a) Muestra**

Se utilizó el suero de los pacientes con previa centrifugación. Las muestras se conservaron hasta 48 hrs. entre 2-8°C por períodos más prolongados a -20 °C. Se evitó congelar y descongelar en forma repetida.

##### **b) Procedimiento**

- i. Antes de iniciar la prueba, se atemperaron los reactivos a temperatura ambiente. Se abrió la placa para que se evaporara el exceso de humedad en los pocillos (si lo hubiere). El control de calidad lo realizó el fabricante siendo específico para cada lote de producción.
- ii. Se aplicó 5 µL. de muestra en los pocillos designados a tal efecto.
- iii. Se colocó en el centro de la placa un algodón o gasa humedecida para mantener la humedad del agar.
- iv. La muestra se difundió hacia el interior del agar. Se cerró firmemente la placa y se colocó en el envase de aluminio original.
- v. Se incubó en posición invertida en cámara húmeda por un período de tiempo entre 48 a 72 horas a temperatura ambiente.

Lectura de los resultados:

- vi. Se midieron los diámetros de los anillos de precipitación con una precisión de 0.1 mm, para ello se utilizó el lector de inmunodifusión.

vii. Se estableció la concentración de Apo B<sub>100</sub> comparando el diámetro del halo medido con la tabla de valores que acompaña a cada placa. La cual se presenta en el anexo 2.

viii. Interpretación de resultados y evaluación de riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares de los pacientes incluidos en el estudio.

Beneficios para el paciente:

viii Los resultados obtenidos fueron proporcionados al médico tratante, para inicio de tratamiento en los pacientes, en los que es necesario, y que muestran un alto riesgo a enfermedades cardiovasculares.

## 5. Aspectos éticos

- a) Consentimiento informado para todos los pacientes que participaron en el estudio.
- b) Se explicó a los pacientes incluidos en el estudio que la investigación no puede modificar los factores de riesgo a los que están expuestos y que la información es estrictamente confidencial.

## D. Diseño de la investigación

1. **Por temporalidad:** Transversal
2. **Tipo de muestreo:** No probabilístico
3. **Tamaño de muestra:** Por cuota
4. **Variables de interés:**
  - a) Niveles de apolipoproteína B<sub>100</sub>
  - b) Niveles séricos de colesterol LDL (mg/dL)
  - c) Niveles séricos de colesterol HDL (mg/dL)
  - d) Presión arterial (mmHg)

## Procesamiento y análisis de los datos

Se realizó un estudio de análisis de regresión logística múltiple para evaluar la relación entre HDL, LDL y Apolipoproteína B<sub>100</sub> el cual permitió obtener la relación entre el factor de riesgo, adicionalmente se calculó  $X^2$ , su nivel de

significancia, y el intervalo de confianza del POR, para ello se utilizó el programa estadístico STATA versión 7.0.

## VIII. RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó los niveles de apolipoproteína B<sub>100</sub> (Apo B<sub>100</sub>) como marcador de riesgo para enfermedades cardiovasculares en una población de 100 pacientes.

Del total de pacientes, 50 se incluyeron como casos (pacientes con criterios de inclusión) y 50 como controles (criterios de exclusión). Las variables tomadas en cuenta para la inclusión o exclusión de los pacientes fueron: Presión arterial, niveles séricos de colesterol LDL y colesterol HDL.

A continuación se presentan los resultados obtenidos, en el estudio después de ser analizados.

En la tabla 6, se presenta el análisis de factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular en la población masculina evaluada en el estudio, donde se observan las principales combinaciones de factores que predisponen a una persona a desarrollar enfermedad cardiovascular.

Se encontró riesgo del 100% en variables combinadas en el grupo de casos, entre los que se mencionan niveles séricos de colesterol HDL disminuidos (menor de 40mg/dL), colesterol LDL aumentado (mayor de 150mg/dL), hipertensión arterial, así como nivel sérico de Apo B<sub>100</sub> mayor de 138mg/dL.

**Tabla 6**

**Factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular en la población masculina evaluada en el laboratorio Clínico Diagnóstico Profesional.**

Parámetros	Población Control (n=50)		Población Casos (n=50)	
	n	%	n	%
B+C+D	1	2	18	36
B+C+E	0	0	42	84
A+B+C	0	0	50	100
A+B+D	1	2	18	36
A+B+E	0	0	46	92
A+C+D	0	0	18	36
C+D+E	0	0	18	36
A+B+D+E	2	4	42	84
A+B	2	4	46	92
A+C	0	0	46	92
A+D	1	2	18	36
A+E	0	0	46	92
B+C	0	0	50	100
B+D	1	2	50	100
B+E	0	0	50	100
C+D	0	0	18	36
C+E	0	0	50	100
E+D	0	0	19	38

Fuente: Datos experimentales

**A:** Nivel sérico de colesterol HDL disminuido (<40mg/dL)

**B:** Nivel sérico de colesterol LDL aumentado (>150mg/dL)

**C:** Hipertensión arterial (>140/90 mm Hg)

**D:** Grupo etario entre 56 a 65 años de edad

**E:** Niveles séricos de Apo B100 mayor del rango normal (58 -138mg/dL)

En la tabla 7 se presenta el análisis de la edad de los pacientes contra el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub>, de ambos grupos (control vrs. casos). El 38% (19/50) de las personas incluidas en el grupo de casos pertenecen al grupo entre los 56-65 años de edad, mientras que el 32% (16/50) del grupo control se encontró entre 36-45 años. El 60% (30/50) del grupo de casos presentó niveles de Apo B<sub>100</sub> arriba de 138 mg/dL, contra el 4% (2/50) de casos atípicos del grupo control.

**Tabla 7**

**Niveles séricos de Apo B100 según grupo etario de las personas que asistieron al Laboratorio Clínico Diagnóstico Profesional para la determinación de la Apo B<sub>100</sub> como marcador de riesgo a enfermedad cardiovascular.**

Parámetros		Población Casos (n=50)			Población Control (n=50)			
Edad (Años)	n	Apo B100 normal No. Casos	Apo B100↑ No. Casos	Apo B100↓ No. Casos	n	Apo B100 normal No. Casos	Apo B100↑ No. Casos	Apo B100↓ No. Casos
25-35	0	0	0	0	1	1	0	1
36-45	16	0	2	14	20	16	0	4
46-55	12	0	9	3	14	6	2	6
56-65	22	0	19	3	15	5	0	9
<b>TOTAL</b>	<b>50</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>20</b>	<b>50</b>	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>20</b>

Fuente: Datos experimentales

#### Donde

Valor normal de Apo B<sub>100</sub>= 58-138mg/dL

n= número de pacientes

En la tabla 8, se presentan los resultados estadísticos (Regresión logística múltiple) los cuales permitieron calcular los Odds ratio (factor de riesgo), la probabilidad de error y el intervalo de confianza para las variables incluidas en el estudio.

**Tabla 8**

**Datos estadísticos por regresión logística múltiple STATA versión 7.0 de las personas que asistieron al Laboratorio Clínico para la determinación del nivel sérico de Apo B<sub>100</sub>**

Variable	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Edad	1.042199	.0325141	1.325	0.185	.9803817	1.107914
Colesterol LDL	1.034557	.0095551	3.678	0.000	1.015998	1.053455
Colesterol HDL	.9641293	.0297397	-1.184	0.236	.9075676	1.024216
Triglicéridos	1.003945	.0017866	2.213	0.027	1.00045	1.007453
Colesterol total	.9866148	.0085309	-1.558	0.119	.9700355	1.003478
Presión arterial	1.920017	.0952384	1.9354	0.1922	.98554569	1.91458
Apo B <sub>100</sub>	1.990789	.0852174	5.998	0.1985	1.099854124	1.1596417

**Fuente:** Datos experimentales

Odds ratio: Magnitud, mayor de 1 factor de riesgo

p>|z|: Probabilidad de error, significativo <0.05

Intervalo de confianza: Riego en la población, mayor 1 significativo

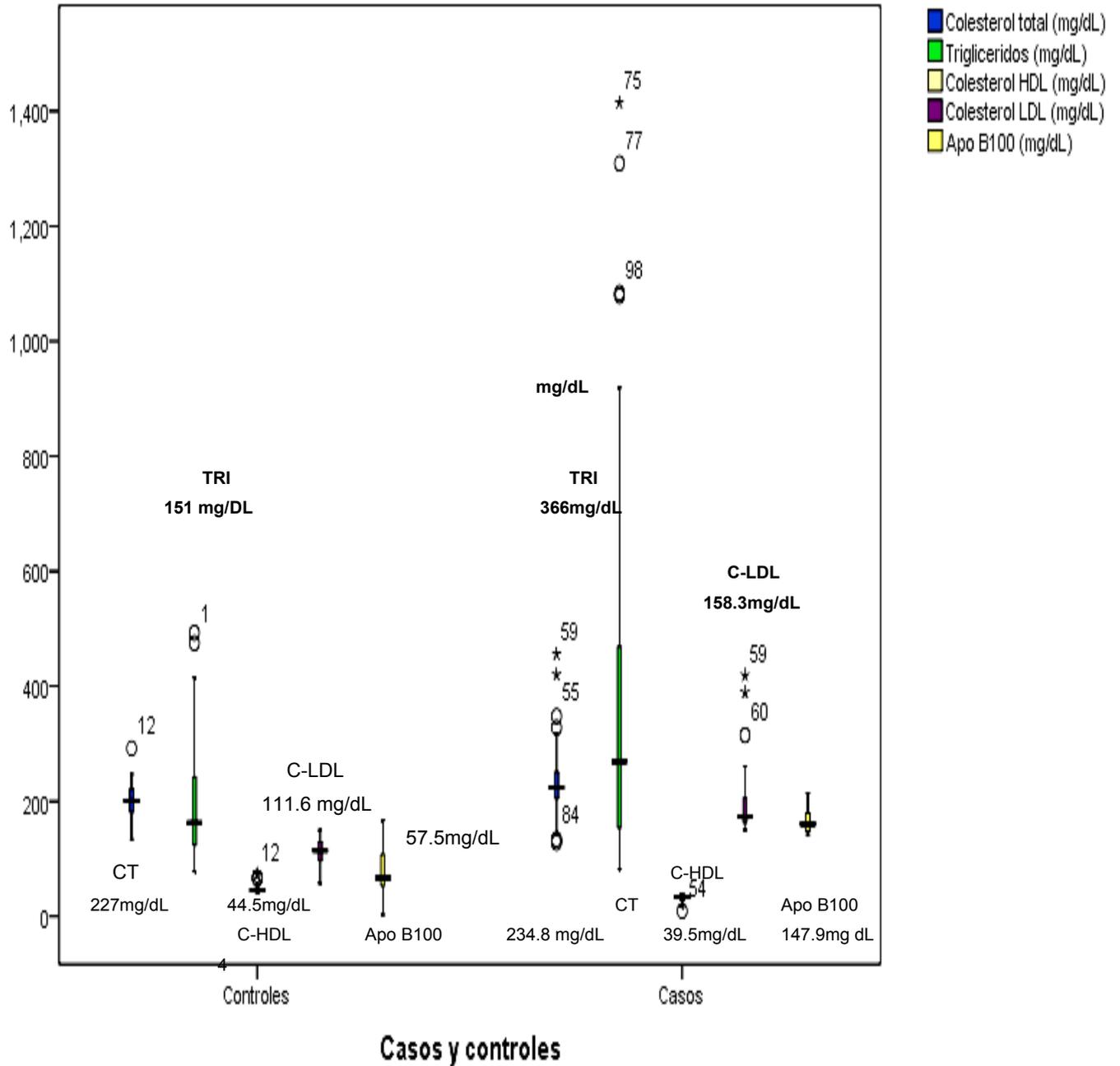
Mediante el análisis de las gráficas de Tuckey se encontraron los siguientes resultados:

En la gráfica 2 se observó que la mediana para el colesterol total en ambos grupos no muestra una diferencia significativa, ya que la mediana del grupo control fue de 227 mg/dL, mientras que para el grupo de casos 234.8 mg/dL, pero el nivel sérico de triglicéridos sí (151 mg/dL para el grupo control y 366 mg/dL para el grupo de casos), además los triglicéridos presentaron un rango intercuartílico más amplio y casos atípicos (mayores de 400 mg/dL) tanto en el grupo de casos como controles. En cuanto al nivel sérico de colesterol HDL, la mediana del grupo casos está por debajo de 40mg/dL (39.5 mg/dL), y el grupo control arriba de 40 mg/dL (44.5 mg/dL). La mediana de los niveles séricos de colesterol LDL del grupo de casos, está arriba del grupo control sobrepasando los 150 mg/dL (158.3 mg/dL), además se presentaron casos atípicos (fuera del rango establecido 150-500 mg/dL).

En cuanto a la distribución de los valores séricos de Apo B<sub>100</sub>, es mayor en el grupo control. Se observó que la mediana del grupo de casos es mayor a la del grupo control (casos: 147.9 mg/dL control: 57.5 mg/dL)

**Gráfica 2**

Variables evaluadas en el estudio, grupo casos vrs. controles (n=50 c/grupo)



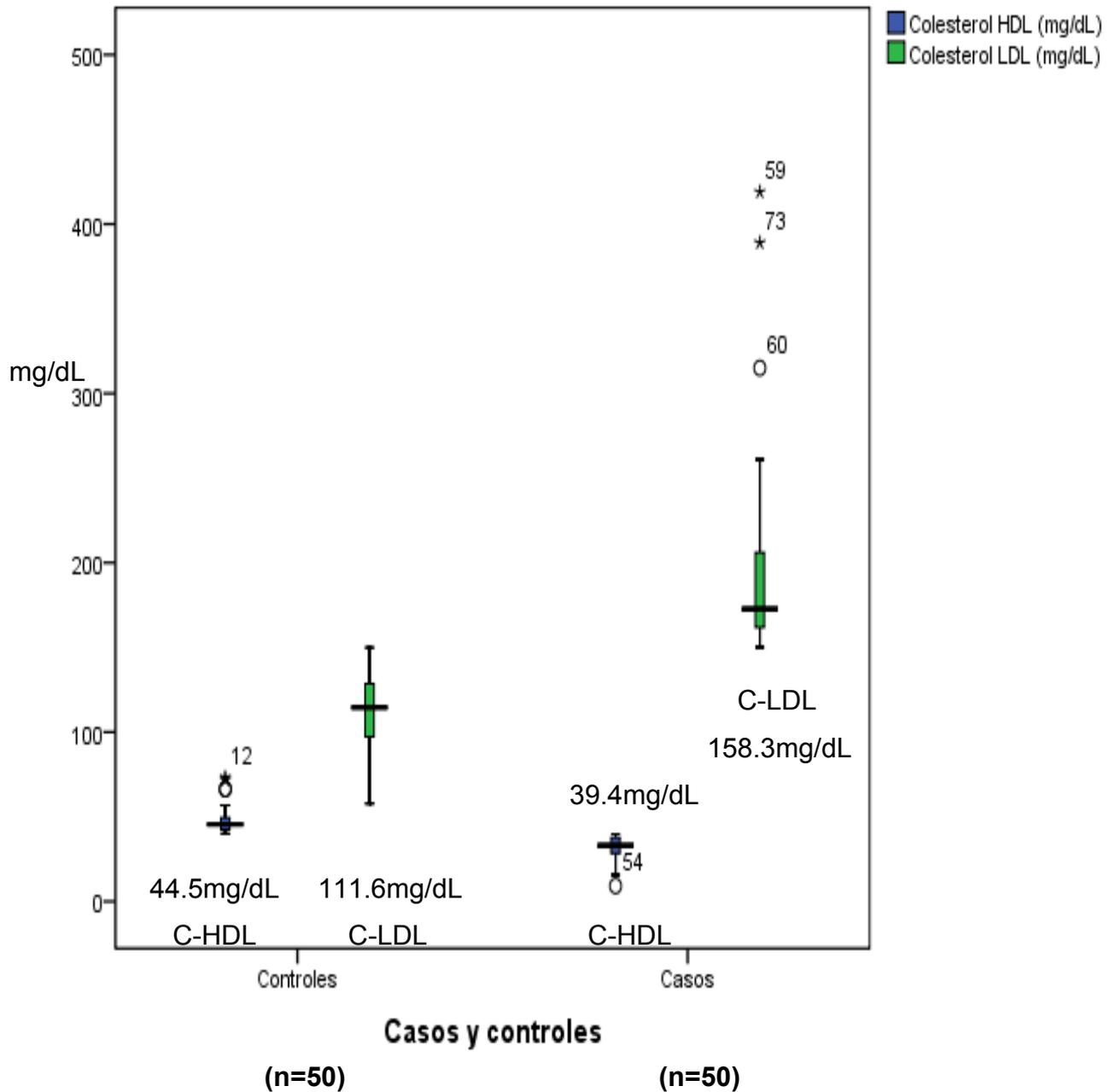
Valor: Mediana, CT: Colesterol total, TRI: Triglicéridos, C-HDL: Colesterol HDL, C-LDL: Colesterol LDL, mg/dL, Apo B100: Apolipoproteína B100

Fuente: Datos experimentales

En la gráfica 3 se presentan los niveles séricos de colesterol LDL y colesterol HDL, la mediana del colesterol LDL es mayor en el grupo de casos (158.3 mg/dL), mientras que la mediana del colesterol HDL es menor en el grupo de casos (39.4 mg/dL).

### Gráfica 3

Niveles séricos de colesterol LDL y HDL de grupo casos vrs. controles

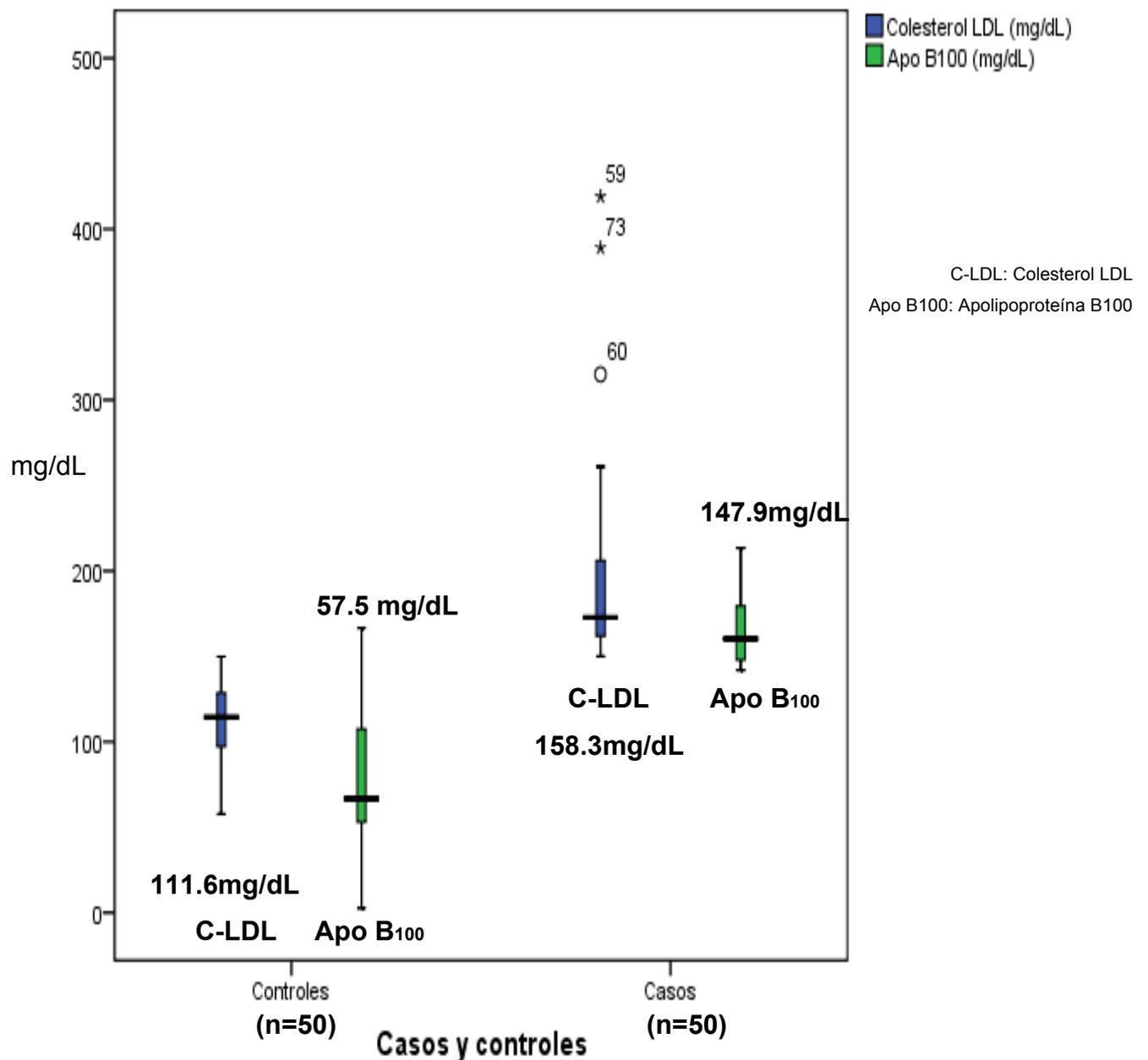


C-HDL: Colesterol HDL,  
C-LDL: Colesterol LDL

En la gráfica 4 se comparan las medianas de los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub>, la mediana del grupo control es menor que la de casos (control: 57.5 mg/dL, casos: 147.9 mg/dL) siendo el comportamiento similar en los niveles séricos de colesterol LDL.

#### Gráfica 4

Niveles séricos de colesterol LDL y Apo B<sub>100</sub> grupo de casos Vrs controles



Los valores en mg/dL corresponden a los valores de las medianas para cada variable.

Fuente: datos experimentales

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se determinaron las concentraciones séricas de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL (cHDL) y colesterol LDL (cLDL) mediante método colorimétrico, así como los niveles séricos de apolipoproteína B<sub>100</sub> (Apo B<sub>100</sub>) por inmunodifusión radial en 50 pacientes adultos, hipertensos, con alteración en el perfil lipídico (grupo casos) y en 50 pacientes con valores normales del perfil lipídico y presión arterial (grupo controles).

Como se puede observar en las tablas 1 y 2 sobre los rangos presión arterial diastólica, los valores normales se encuentran entre 85-130 mmHg. El grupo control fue constituido por personas que presentaron presión arterial dentro de este rango, y el grupo de casos en el rango de 140 – 180 mmHg. Tomando en cuenta que el término factor de riesgo no implica causalidad, sino más bien una serie de circunstancias biológicas que identifican a las personas con riesgo de padecer enfermedad cardiovascular.

Se establece en el análisis de riesgos asociados a enfermedad cardiovascular (tabla 6) que el 100% de pacientes con hipertensión arterial presentaron niveles séricos aumentados de Apo B<sub>100</sub>. Esto indica que al presentarse dos factores de riesgo en un mismo individuo, este potencia el riesgo a desarrollar enfermedad cardiovascular.

Se encontró en el estudio que el nivel sérico de colesterol total del grupo de casos en comparación con el grupo control, no muestra diferencia significativa, como se puede observar en las medianas de ambos grupos (casos: 234.8 mg/dL, control: 227 mg/dL). Es importante mencionar que ambos grupos presentaron niveles séricos de colesterol total arriba de lo establecido como normal (menor de 200 mg/dL), de acuerdo con las especificaciones del Programa Americano de Colesterol (NCEP), por lo que se consideraron como variables de interés únicamente los niveles séricos de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) y colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) (33).

Los niveles séricos de triglicéridos están aumentados en el grupo de casos. Al comparar los resultados entre el grupo control y grupo casos se observó un comportamiento similar entre el nivel sérico de triglicéridos y cLDL, por lo que se establece que la relación entre la concentración del colesterol LDL y los triglicéridos es negativa; pero dicha tendencia es tan pequeña que no tuvo significancia estadística. Los datos que se encuentran fuera de la distribución intercuartílica en las cajas de Tuckey son datos extremos o erróneos que se obtuvieron en el estudio.

En varios estudios se determinó que los individuos con niveles séricos bajos de cHDL, son aparentemente más susceptibles a sufrir enfermedad cardíaca coronaria prematura. Los pacientes incluidos en el estudio que presentaron nivel sérico de colesterol HDL disminuido (< de 40mg/dL) mostraron un nivel sérico de Apo B<sub>100</sub> arriba de 138 mg/dL. Los datos estadísticos por regresión logística múltiple, presentados en la tabla 8, indican que no existe diferencia significativa, determinada por el intervalo de confianza entre los niveles séricos de colesterol HDL del grupo de casos (mediana: 39.4 mg/dL) y el grupo control (mediana: 47.8 mg/dL) (3,10).

Se ha determinado en diferentes estudios epidemiológicos que por cada miligramo de aumento de colesterol HDL, se produce una disminución de riesgo cardiovascular en un porcentaje promedio de 2% en hombres y 3% en mujeres (10).

En la gráfica 4, se puede observar que la relación entre el nivel sérico de colesterol LDL y Apo B<sub>100</sub> es positiva, lo que significa que cuando un paciente presenta niveles séricos de colesterol LDL arriba de 150mg/dL, el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub> tiende a aumentar arriba de 138mg/dL. En el presente estudio se encontró una correlación del 100% entre los niveles séricos de colesterol LDL y Apo B<sub>100</sub>. Estos resultados confirman la utilidad de la prueba como marcador de riesgo a desarrollar enfermedad cardiovascular. En otros estudios se encontró que niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> incrementan en un 43% en los pacientes que han sufrido infarto al miocardio, al ser comparado con la concentración de individuos sanos control (6,10).

En la tabla 7 se realizó una comparación entre los diferentes grupos de edad y el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub> en ambos grupos. De acuerdo a estudios realizados los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> aumentan en el sexo masculino entre las edades de 18 a 55 años, y tienden a decrecer en grupos de mayor edad, es decir mayor de 56 años (14,16).

Esto no fue comprobado en el estudio, ya que las 19 personas del grupo de casos (56-65 años) presentaron niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> mayores de 138 mg/dL (58 – 138 mg/dL).

En base al análisis estadístico (tabla 8) se encontró que de los factores estadísticos evaluados, únicamente el colesterol LDL tiene relación significativa con el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub>, que en magnitud (Odds Ratio) es de 1.03, interpretándose como un riesgo del 3%. Es decir cada vez que se encuentre un nivel sérico de colesterol LDL >150 mg/dL, existe un 3% de riesgo que el nivel sérico de Apo B<sub>100</sub> este >138 mg/dL. Tomando en cuenta el intervalo de confianza (utilizado como medio de inferencia o generalización a la población) este riesgo va del 1 al 5% a desarrollar enfermedad cardiovascular.

## X. CONCLUSIONES

1. Se determinó que el factor de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular en pacientes hipertensos con niveles séricos elevados de Apo B<sub>100</sub> (>138mg/dL), es del 99% (Odds Ratio >1).
2. Todos los pacientes hipertensos, presentaron niveles séricos alterados de Colesterol total (234.8 mg/dL), Colesterol HDL (39.50 mg/dL), Colesterol LDL (158.30 mg/dL), y Triglicéridos (366.00 mg/dL), donde el valor representa las medianas correspondientes.
3. Los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> (mediana= 147.9 mg/dL) en pacientes hipertensos con niveles séricos de colesterol HDL disminuidos (mediana = 39.4 mg/dL) y niveles de colesterol LDL elevados (mediana= 158.3 mg/dL).
4. En el grupo de pacientes hipertensos existe correlación entre los niveles séricos de Apo B<sub>100</sub> (mayor de 138 mg/dL) y de colesterol LDL (mayor de 150mg/dL), y de acuerdo a la tasa de probabilidad calculada, el factor de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular es del 3 %.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Ampliar el número de pacientes para confirmar los resultados de factores de riesgo asociados a desarrollar enfermedades cardiovasculares de este estudio.
2. Evaluar diferentes marcadores de riesgo o protectores a padecer enfermedades cardiovasculares como la determinación de la Apolipoproteína A-1, en pacientes que presenten los criterios de inclusión del presente estudio.

## XII. REFERENCIAS

1. **Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Semanas epidemiológicas**, Disponible en [www.misas.rn](http://www.misas.rn), consultado en Mayo 2,005.
2. Ochoa R, B. **Niveles séricos de lipoproteína en pacientes hiperlipémicos tratados con hipolipemiantes inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima reductasa que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón**. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica) 2,001. 54pp.
3. Baechli F, *et al.* **Control de la colesterolemia en España, Un instrumento para la Prevención Cardiovascular**. Rev. Esp Cardiol.2006. No. 53. Pp. 815 – 835.
4. Gary H. **Hiperlipidemias como factor de riesgo de enfermedades coronarias**. México: El Manual Moderno S.A de C.V., 2001.2310pp (p.3 -22).
5. Joshep D, **Nuevos factores de riesgo detectables en la edad adulta**. Buenos Aires Argentina., 2005.159pp (p. 112-115).
6. Pop GAM, Van Dijk APJ. **Diagnóstico de enfermedades cardiovasculares**. México. 2004. Arch Cardiol 74 Suple (2):531-536.
7. Simionescu, N y Lupu, F. **Prelesional events in atherogenesis**. *Am J Pathol*. 1996. No.123.pp.109-125.
8. J Hypert. **The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)**. 2007

- Guidelines for the Management of Arterial Hypertension.** 2007. 25: 1005-1187.
9. Abanades JC., *et. al.* **Hipertensión Arterial.** En: **Programas básicos de salud nº1 Programa del Adulto.** Madrid: Doyma ; 1997. p.11-52.
  10. González JR, *et. al.* **Actualización de las Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en hipertensión arterial.** Rev. Esp Cardiol 2003; 56: 487-49.
  11. Coca A, Bertomeu V, Dalfó A, Esmatjes E, Guillén F, Guerrero L et al. **Automedida de la presión arterial.** Documento de Consenso Español 2007. Nefrología 2007;27(2) :139-153
  12. Isselbacher K, *et al.* **Principios de Medicina Interna.** 13ava. Ed. Madrid, España: Interamericana McGraw-Hill. Vols. I y II 1,994.1436p. (p1096)
  13. Interamerican Heart Foundation. **Dedicated to reducing disability and death from cardiovascular diseases in the Americas.** Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases in The Americas 1996; 210:39,66.
  14. Lewis, B, *et al.* **Selective retention of VLDL, IDL in the arterial intimate of genetically hiperlipidemic rabbits in vivo.** Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999. No.15.pp.534-542.
  15. Philips M. **Studies of apolipoproteinsat the air-water interface.** En: Segrest J, Albers J, editors. Methods in enzyme. Orlando; Academic Press, 1986. pp. 387-402
  16. Breslow, JL. **Apolipoprotein genetic variation and human disease.** *Physiol Rev.* 1988. No. 68. pp. 85-132

17. Mahley RW, *et al.* **Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function.** *J Lipid Res.* 1984. No. 25. pp. 1277-1294
18. Christie, RH, *et al.* **Expression of the macrophage scavenger receptor, a multifunctional lipoprotein receptor, in microglia associated with senile plaques in Alzheimer disease.** *Am J Pathol.* 1996. No.148. pp.399-403
19. Packard, C. **LDL Sub fractions and atherogenicity: an hypothesis from the University of Glasgow.** *Curr Med Res Op.*1996. No.13. pp.379-390
20. Batal, R. *et al.* **Plasma kinetics of Apo B and Apo E in normolipemic and hypertriglyceridemic subjects.** *J. Lipid Res.* 2000. No. 41. pp. 706-718
21. Brown, MS. **A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis.** *Science.* 1986. No. 232. pp. 34-47
22. Drake, TA, *et al.* **Minimally oxidized low-density lipoprotein induces tissue factor expression in cultured human endothelial cells.** 1991. *Am J Pathol.* No. 138. pp. 601-607
23. Febbario, M, *et al.* **Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice.** *J Clin Invest.* 2001. Vol. 105. No. 8. pp. 1.049-1.056
24. Steimberg, D, *et al.* **Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity.** *N England J Med.* 1989. No. 320. pp. 915

25. Brown, Ms. **A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis.** *Science*. 1986. No. 232. pp.34-47
26. Brown, BG, *et al.* **Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high apolipoprotein B.** *N Engl J Med*. 1990. No. 323. pp.1.289
27. Ross, R. **The pathogenesis of atherosclerosis.** *N Engl J Med*. 1976. No. 420. pp.295:369
28. Ross R. **The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990** *Nature*. 1993. No. 362. pp.801
29. Vijayagopal, P. **Macrophages stimulate cholesteryl ester accumulation in cool cultured smooth muscle cell incubated with lipoprotein-proteoglycan complex.** *Artheroscler Thromb Vasc Biol*. 1996.No.16. pp. 1.112-1.121
30. Schwenke, DC. **Initiation or atherosclerosis lesion in cholesterol fed rabbits. Selective retention of LDL versus selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries.** *Artherosclerosis*. 1989. No. 9. pp.908-918
31. Smith, B, *et al.* **Selective retention of VLDL, IDL and LDL in arterial intima of genetically hyperlipidemic rabbits *in vivo*.** *Artheroscler Tromb Vasc Biol*. 1995. No. 15. pp. 534-542
32. Kristhofer, A, *et al.* **Control de la Colesterolemia en España, 2001: Un instrumento para la Prevención Cardiovascular.** *Rev Esp Cardiol*. 2001. No. 53. pp.815-837
33. Mcnamara JR. *et al.* **Calculate values for LDL in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk.** *Clin. Chem*. 2002; 2:236-254

34. Bernard H. **Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio** 9na. Edición. Ed. Ediciones Científicas y Técnicas. Barcelona, 1993. pp. 200-212
35. Siekmeier R. **Precipitation of LDL with sulfated polyanions; three methods compared.** *Clin Chim.* 1990;36:2109-13
36. Warnick Gr. *et al.* **Estimating low-density lipoprotein cholesterol.** *Clin. Chem.* 1990;36:15-19
37. Tietz NW. **Fractionation of lipoproteins;** *Textbook. Clinical Chemistry* Philadelphia, WB Saunders. 1986.276p. pp.89-101
38. Nauck M, *et al.* **Methods for Measurement of LDL cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation.** *Clin. Chem.* 2003;2:236-254
39. Nauck M, *et al.* **Measurement of LDL and VLDL cholesterol with precipitation techniques.** A comparison with the ultracentrifugation method. *Clin. Lab.* 1994;40:167-76
40. Rifai, N. *et al.* **Measurement of low density lipoprotein cholesterol in serum.** *Clin, Chem.* 1993;38:150-60
41. Nauck M, *et al.* **A simple precipitation-based method for screening of type III hiperlipoprotein.** *Clin. Chem* 1999;45:909-11
42. Duerrschmidt, N, *et al.* **Angiotensin II Induces LOX-1, the Human Endothelial Receptor for Oxidized Low Density Lipoprotein Circulation.** 1999. No.100. pp. 899-902

43. **Apolipoproteínas en Bayer Diagnóstico.** Año I, Número 3. Julio, 1997. Págs.5-7, Apolipoproteínas en Bayer Diagnóstico. Año I, Número 4. Septiembre, 1997. Págs.3-6.
44. Henry, J. **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory methods**, twentieth edition, Saunders, Philadelphia London New York, st. Louis Sydney Toronto, 2,001. Pp 233-234.
45. Documentos técnicos Dyasis®.
46. Hernández C, *et al.* **Hipercolesterolemia en hipertensos.** Medicina Clínica 2002; 113/8:2301-06.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1

#### Boleta de selección del paciente

#### “Niveles de apoproteína B<sub>100</sub> sérica como marcador de riesgo a enfermedades cardiovasculares en pacientes hipertensos”

Yo \_\_\_\_\_ estoy de acuerdo en participar en el estudio.  
Se que no estaré expuesto(a) a ningún riesgo y que mi participación es completamente voluntaria y confidencial.

Fecha \_\_\_\_\_ No. de muestra \_\_\_\_\_ No. de encuesta \_\_\_\_\_

Paciente \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Favor marcar con una X lo que se le pregunta a continuación

Realizó un ayuno estricto de 12 a 14 horas                      Si                      No

Se encuentra bajo tratamiento: Hipertensión \_\_\_\_\_ Hipercolesterolemia \_\_\_\_\_

#### Resultados del perfil lipídico y presión arterial

Colesterol total _____ mg/dL	Triglicéridos _____ mg/dL
HDL _____ mg/dL	LDL _____ mg/dL
Presión arterial _____ mm Hg.	

#### Criterios de inclusión

Para el grupo de estudio	Para el grupo control
Ser adulto: edad 25- 65 años	Ser adulto: edad 25-65 años
Ser hipertenso	Ser normo tenso
Colesterol total mayor de 200 mg/dL y C-LDL mayor de 150 mg/dL	Tener concentraciones séricas normales de colesterol total, C-LDL y C-HDL
C-HDL menor de 40 mg/dL	

#### Criterio de exclusión

Se excluirán pacientes con Diabetes Mellitus tipo II y con hábito de fumar.

## Anexo 2

**Tabla de lectura para la medición de los halos con respecto a la concentración dependiendo del lote del Kit.**

PLACA Apo B100 LOTE 703 Ta De Incub. 23 °C Tpo. DE INCUB. 48h			VALORES ESPERADOS (ADULTOS)				RANGO DE LA PLACA	
			MEDIA 98 ng/dL	UL/mL		16.5	a	
			95% DE RANGO 58 a 138	mg/dL		320.4		
			a		UL/mL			
No.	Muestra	D	mg/dL	UI/mL	D (mm)	mg/dL	D (mm)	mg/dL
					3.6	2.7	6.4	130.0
					3.7	6.0	6.5	135.9
					3.8	9.4	6.6	141.9
					3.9	12.9	6.7	147.9
					4.0	16.5	6.8	154.0
					4.1	20.2	6.9	160.3
					4.2	24.0	7.0	166.6
					4.3	27.8	7.1	173.0
					4.4	31.8	7.2	179.5
					4.5	35.8	7.3	186.1
					4.6	40.0	7.4	192.8
					4.7	44.2	7.5	199.6
					4.8	48.5	7.6	206.4
					4.9	53.0	7.7	213.4
					5.0	57.5	7.8	220.4
					5.1	62.0	7.9	227.6
					5.2	66.7	8.0	234.8
					5.3	71.5	8.1	242.1
					5.4	76.4	8.2	249.6
					5.5	81.3	8.3	257.0
					5.6	86.4	8.4	264.6
					5.7	91.5	8.5	272.3
					5.8	96.7	8.6	280.1
					5.9	102.1	8.7	288.0
					6.0	107.5	8.8	295.9
					6.1	113.0	8.9	304.0
					6.2	118.6	9.0	312.1
					6.3	124.3	9.1	320.4

Nota: la tabla de valores se confecciona sobre un gran número de placas de cada lote utilizando un programa estadístico por computación para trazar la mejor recta. Sólo es válida para el número de lote indicado. Variaciones en los parámetros del ensayo, como volumen de muestras, temperatura, tiempo de incubación y utilización de la placa una vez abierta por un lapso superior a 1 mes pueden producir diámetros no concordantes con los especificados en la tabla.

**Anexo 3****RECOMENDACIONES GENERALES PARA EL HIPERTENSO CON EL COLESTEROL ALTO**

Recordar que independientemente de los niveles de tensión arterial que tenga y de si se esta en tratamiento para bajar sus cifras de presión o no, se deben seguir las siguientes medidas higiénico - dietética:

- Controlar su peso en caso de obesidad o sobrepeso.
- Practicar regularmente ejercicio físico (isotónico).
- Moderar el consumo de alcohol.
- Restringir moderadamente su ingesta de sal (5 gr/día).
- Suprimir el tabaco (por su importante papel como factor de riesgo cardiovascular).
- A demás de otras medidas: favorecer el consumo de alimentos ricos en calcio, potasio y fibra.
- Practicar técnicas de relajación.

En caso de tener colesterol elevado:

Todas estas medidas, con excepción de la restricción salina, coinciden con las recomendaciones generales que se deben seguir por tener niveles de colesterol por encima de los considerados como normales (11).

---

**Br. Ingrid Mariela Wug Rodríguez**  
**Autor**

---

**M.Sc. Alba Marina Valdés de García**  
**Asesora**

---

**Licda. Karla Lange**  
**Revisora**

---

**M.Sc. Vivian Matta Ríos de García**  
**Revisora**

---

**M.Sc. Vivian Matta Ríos de García**  
**Directora Escuela Química Biológica**

---

**Óscar Cobar Pinto Ph.D**  
**Decano Facultad Ciencias Químicas y Farmacia**

