



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Valor diagnóstico de las dislipemias asociadas a obesidad

Autor: Laura Soto Esclapez

Tutor: Enrique Roche Collado

Instituto de Bioingeniería

Departamento de Biología Aplicada-Área de Nutrición y Bromatología

Máster Universitario en Biotecnología y Bioingeniería

Curso académico 2018/2019

RESUMEN

Los estudios epidemiológicos demuestran que los adolescentes con obesidad tendrán más probabilidades de sufrir patología cardiovascular en la edad adulta. Con este TFM, se pretende estudiar el perfil lipoproteico completo y detectar marcadores que tengan valor diagnóstico en adolescentes obesos para conocer si tienen predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares en la edad adulta. Para ello, 28 adolescentes obesos fueron admitidos en un programa de reducción de peso con dieta y ejercicio. Al inicio y al final de la intervención, se midió el perfil lipídico y la glucemia mediante análisis convencional, el perfil lipídico completo mediante el sistema Lipoprint[®] y los parámetros antropométricos, comparándolos con 21 adolescentes normopeso. Tras la intervención de 4 meses, los parámetros antropométricos mejoraron, las HDL grandes aumentaron, siendo la HDL-1 y la fracción total las que lo hicieron de forma significativa. Estos parámetros son indicativos de un menor riesgo de padecer enfermedad cardiovascular en la edad adulta. En las HDL pequeñas y las LDL pequeñas no existían diferencias significativas, encontrándose al inicio dentro del rango saludable. En el resto de subfracciones y en los resultados de las analíticas convencionales no se encontraron datos concluyentes.

Palabras clave: adolescentes; obesidad; dislipemias; aterosclerosis; enfermedades cardiovasculares; Lipoprint[®]

ABSTRACT

Epidemiological studies show that obese teenagers will be more prone to suffer cardiovascular pathologies in adulthood. In this TFM, we intend to study the complete lipoprotein profile and detect markers with diagnostic value in obese teenagers to know if they are predisposed to suffer cardiovascular diseases in adulthood. For this, 28 obese teenagers were admitted to a weight reduction program with diet and exercise. At the beginning and at the end of the intervention, the lipid profile and glycemia were measured by conventional analysis, the complete lipid profile by the Lipoprint[®] system and the anthropometric parameters, comparing them with 21 normal-weight adolescents. After 4 month intervention, the participants improved the anthropometric parameters, the large HDL increased, being the HDL-1 and the total fraction those that did it in a significant way. These parameters are indicative of a lower risk of cardiovascular disease in adulthood. In small HDL and small LDL no significant differences were found, being at the beginning within the

healthy range. In the rest of the subfractions and in the results of the conventional blood analysis, no conclusive data were found.

Keywords: teenagers; obesity; dyslipidemia; atherosclerosis; cardiovascular diseases; Lipoprint®



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Estructura general de las lipoproteínas	6
1.2 Quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y densidad intermedia (IDL)	9
1.3 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)	14
1.4 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	16
1.5 Transporte de ácidos grasos por la albúmina	19
1.6 Valor diagnóstico de los parámetros lipídicos circulantes	19
2. OBJETIVOS	23
3. MATERIAL Y MÉTODOS	23
3.1 Sujetos	23
3.2 Determinación del perfil lipídico y glucemia circulantes	24
3.3 Lipoprint®	26
3.4 Tratamiento estadístico	29
4. RESULTADOS	30
4.1 Características demográficas y antropométricas	30
4.2 Perfil lipídico y glucemia circulantes según analítica convencional	32
4.3 Perfil lipídico a partir de la técnica de Lipoprint®	33
5. DISCUSIÓN	34
5.1 Características demográficas y antropométricas	34
5.2 Perfil lipídico y glucemia circulantes según analítica convencional	36
5.3 Perfil lipídico a partir de la técnica de Lipoprint®	37
6. CONCLUSIONES	39
7. BIBLIOGRAFÍA	40

1. INTRODUCCIÓN

Los lípidos representan un grupo de nutrientes de la dieta cuya principal característica es su naturaleza hidrofóbica. Esto condiciona tanto su digestión intestinal, como su transporte en los fluidos biológicos (linfa y sangre). En este contexto, la mayor parte de los lípidos que se encuentran en la dieta son triglicéridos (94%), fosfolípidos (5%) y ésteres de colesterol (1%).

Brevemente y en relación con su digestión intestinal, los lípidos de la dieta presentan un mecanismo más complejo debido a su escasa solubilidad en el medio acuoso intestinal, que es donde ocurre la digestión de estos nutrientes en los individuos adultos. En la digestión de los lípidos participan diversas enzimas pancreáticas: lipasa-colipasa, fosfolipasa A2 y colesterol esterasa (lipasa no específica). Sin embargo, para que estas enzimas puedan actuar en un entorno graso, los lípidos que salen del estómago son emulsionados por las sales biliares en el duodeno, formando micelas de grasa de diferentes diámetros (100 nm-1 μ m). En éstas, la parte hidrofóbica del lípido se encuentra en el interior de la micela, mientras que las partes hidrofílicas se exponen al medio intestinal. Diariamente se vierten al intestino entre 20-50 g de sales biliares. Tanto la colipasa (coactivador de la lipasa), como la fosfolipasa A2 son secretadas como precursores y activadas por la tripsina. A medida que avanza la digestión, las micelas formadas van reduciendo su tamaño y pasando a estructuras lamelares que siguen presentando los grupos hidrofílicos hacia el lumen intestinal. Las actividades de estas enzimas se esquematizan en la Tabla 1 (Hussain, 2014).

Tabla 1: Esquema de las reacciones que catalizan las principales enzimas digestivas de los lípidos.

Esquema de la reacción hidrolítica:
Sustrato ---(Enzima)→ Productos
Triglicéridos ---(Lipasa-Colipasa)→ 2 Ácido graso + 2-Monoglicérido
Triglicéridos ---(Lipasa inespecífica)→ 3 Ácido graso + glicerol
Fosfolípidos ---(Fosfolipasa A2)→ Ácido graso + Liso fosfolípido
Ésteres de colesterol ---(Lipasa inespecífica)→ Ácido graso + colesterol

Todos los productos resultantes de la digestión de los lípidos, a excepción del glicerol, tienen carácter hidrofóbico, lo que les permite atravesar la membrana del enterocito mediante un

proceso de difusión, aunque también existen cotransportadores específicos de ácidos grasos/Na⁺. El colesterol entra en el enterocito por difusión, aunque existen mecanismos que limitan su absorción. Dichos mecanismos también controlan la absorción de fitosteroles de origen vegetal. Una vez los distintos compuestos lipídicos han alcanzado el citosol celular hidrofílico del enterocito, deben de unirse a proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP: Fatty Acid Binding Proteins) y proteínas transportadoras de esteroides (SCP: Sterol Carrier Protein). De esta forma, son transportados al interior del retículo endoplásmico liso donde tiene lugar la síntesis de nuevos triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol, por la acción de diversas enzimas. Entre ellas se encuentra la acil-CoA colesterol aciltransferasa 2 (ACAT2), que produce ésteres de colesterol. Posteriormente, los lípidos resultantes se unen a apoproteínas B, C y A, y son procesados en el aparato de Golgi dando lugar al primer tipo de lipoproteínas: los quilomicrones. Éstos son secretados desde el enterocito al capilar linfático, pasando al sistema linfático y finalmente a la sangre a través de la conexión torácica. (Civeira et al., 2013). No obstante, en la linfa y en la sangre los lípidos como los triglicéridos, colesterol y vitaminas liposolubles necesitan ser transportados por lipoproteínas, además de los quilomicrones, ya que son insolubles en agua y no pueden circular libres (Feingold y Grunfeld, 2000a). Finalmente, los ácidos grasos pueden circular asociados a la albúmina desde los adipocitos a los tejidos que los van a oxidar, como por ejemplo el músculo esquelético.

1.1 Estructura general de las lipoproteínas

Se trata de estructuras esferoidales o discoidales, en las que en la parte más exterior se encuentran los componentes polares como el colesterol no esterificado, fosfolípidos y las regiones hidrofílicas de proteínas específicas, mientras que en el interior se encuentran los componentes no polares, normalmente triglicéridos y colesterol esterificado y las regiones apolares de las proteínas. Las proteínas presentes en las lipoproteínas son de 2 tipos: las apoproteínas o apolipoproteínas (Apo) que interaccionan con receptores o enzimas, y enzimas propiamente dichas. Dependiendo de la cantidad de lípidos, las lipoproteínas pueden adoptar una forma esférica o discoidal. Las lipoproteínas de baja densidad presentan una forma esférica ya que poseen en su interior una cantidad elevada de triglicéridos y/o colesterol esterificado. Sin embargo, las lipoproteínas de alta densidad pueden tener una forma discoide o esférica dependiendo de si poseen poca o alta cantidad respectivamente de los lípidos mencionados anteriormente. Además, los componentes lipídicos y proteicos de las

lipoproteínas se pueden intercambiar debido a que no poseen enlaces covalentes, con excepción de la Apo B, debido a su elevado tamaño (Arai, 2014).

Con todo ello, las lipoproteínas se pueden clasificar según la cantidad de lípidos y proteínas que contengan. Las lipoproteínas de baja densidad presentan una mayor cantidad de lípidos y son las de mayor tamaño y las de alta densidad tienen una mayor cantidad de proteínas y son de menor tamaño. Así, existen diferentes tipos ordenados de menor a mayor densidad: quilomicrones (QM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Errico et al., 2013). Por su parte, las apolipoproteínas cumplen con 3 importantes misiones: mantener a los lípidos en circulación, regular enzimas del metabolismo lipídico e interactuar con receptores específicos de los distintos tejidos para proporcionarles los lípidos que necesitan. El mecanismo de incorporación es por endocitosis mediada por receptores. La Tabla 2 muestra las principales características de las lipoproteínas y la Tabla 3 de las apolipoproteínas.

Tabla 2: Características de las lipoproteínas.

Fracción	Origen	Densidad (g/mL)	Diámetro (nm)	Lípidos Transportados (% peso)	Apolipoproteínas (% peso)
QM	Intestino	0,95	80-1000	<u>Lípidos de la dieta:</u> 90% Triglicéridos 2% Colesterol 3% Ésteres colesterol 4% Fosfolípidos	B48, A-I, A-II, C, E (1%)
VLDL	Hígado	0,95-1,006	30-80	<u>Lípidos hepáticos:</u> 55% Triglicéridos 7% Colesterol 13% Ésteres colesterol 18% Fosfolípidos	B-100, C, E (6-10%)
IDL	VLDL	1,006-1,019	25-30	<u>Remanentes VLDL:</u>	B-100, E

				25% Triglicéridos 9% Colesterol 28% Ésteres colesterol 21% Fosfolípidos	(15-20%)
LDL	VLDL IDL Hígado	1,019-1,063	20-25	<u>Colesterol y ésteres de colesterol:</u> 10% Triglicéridos 8% Colesterol 40% Ésteres colesterol 21% Fosfolípidos	B-100 (20-22%)
HDL	Hígado Intestino	HDL ₂ :1,063 HDL ₃ : 1,21	HDL ₂ : 9-15 HDL ₃ : 5-9	<u>Lípidos a eliminar:</u> <u>HDL₂ HDL₃ :</u> 5% 3% Triglicéridos 5% 3% Colesterol 17% 12% Ésteres colesterol 33% 28% Fosfolípidos	A-I, AII, C, D, E HDL ₂ : 35-45% HDL ₃ : 50-55%

Tabla 3: Características de las apolipoproteínas.

Apolipoproteína	PM (kDa)	Lipoproteínas	Tejido de síntesis
A-I	29	QM HDL	Hígado Intestino
A-II	17	QM HDL	Hígado Intestino
B-48	241	QM	Intestino
B-100	513	VLDL IDL	Hígado

		LDL	
C-I	6,6	QM VLDL IDL LDL HDL	Hígado
C-II	8,9	QM VLDL IDL LDL HDL	Hígado
C-III	8,8	QM VLDL IDL LDL HDL	Hígado
D	19	HDL	Hígado
E	34	QM VLDL IDL HDL	Hígado

1.2 Quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y densidad intermedia (IDL)

En el intestino se forman los QM que se encargan de transportar la grasa ingerida en la alimentación. Para ello, dentro del enterocito los ácidos grasos se empaquetan en forma de triglicéridos y son transportados por los quilomicrones, los cuales serán secretados hacia la linfa. Finalmente, llegarán a la sangre a través del ducto torácico. Están formados por una

zona central rica en triglicéridos y ésteres de colesterol y una capa más externa formada por fosfolípidos y colesterol libre. Las apolipoproteínas iniciales son la apoB-48 y las apoA-I y II. Más tarde en circulación sanguínea, los quilomicrones adquieren apoE y apolipoproteínas del grupo C, que le son transferidas por las VLDL y las HDL. La apoB-48 juega un importante papel en el proceso secretor al captar los lípidos en el retículo endoplásmico, transportarlos al Golgi y facilitar posteriormente su secreción. La apoB-48 es una forma truncada de la apoB-100 (ver más adelante en las VLDL y LDL). La apoB-48 tiene 2152 aminoácidos frente a los 4563 de la apoB-100. El dominio que falta en la apoB-48 es el que establece las interacciones con receptores y de hecho esta apolipoproteína no interacciona con ningún receptor (Ramasamy, 2014).

Los QM reducen su tamaño por la captación de lípidos por parte de los tejidos extrahepáticos (adipocitos, músculo, corazón, pulmones, entre otros). Dicha captación se realiza por la acción de una enzima de membrana presente en las células endoteliales y denominada lipoproteína lipasa (LPL). Esta enzima hidroliza los triglicéridos de los quilomicrones en 2 moléculas de ácidos grasos libres y una molécula de 2-monoacil-glicerol. Para su actividad, la LPL requiere la presencia de fosfolípidos y de la apoC-II.

Al cabo de unas 14h, los QM han transferido el 80-90% de los triglicéridos, pasando a ser remanentes de QM. Estos remanentes son ricos en ésteres de colesterol e intercambian apolipoproteínas de los grupos A y C a las HDL por apoE, además de ésteres de colesterol. La apoE permite el reconocimiento hepático de los remanentes de QM por parte de los mismos receptores que reconocen las LDL (ver más adelante). El complejo unido al receptor es incorporado al hepatocito por endocitosis y los lípidos y proteínas son degradados por la acción de enzimas lisosomales (Feingold y Grunfeld, 2000a). Proceso representado en la Figura 1.

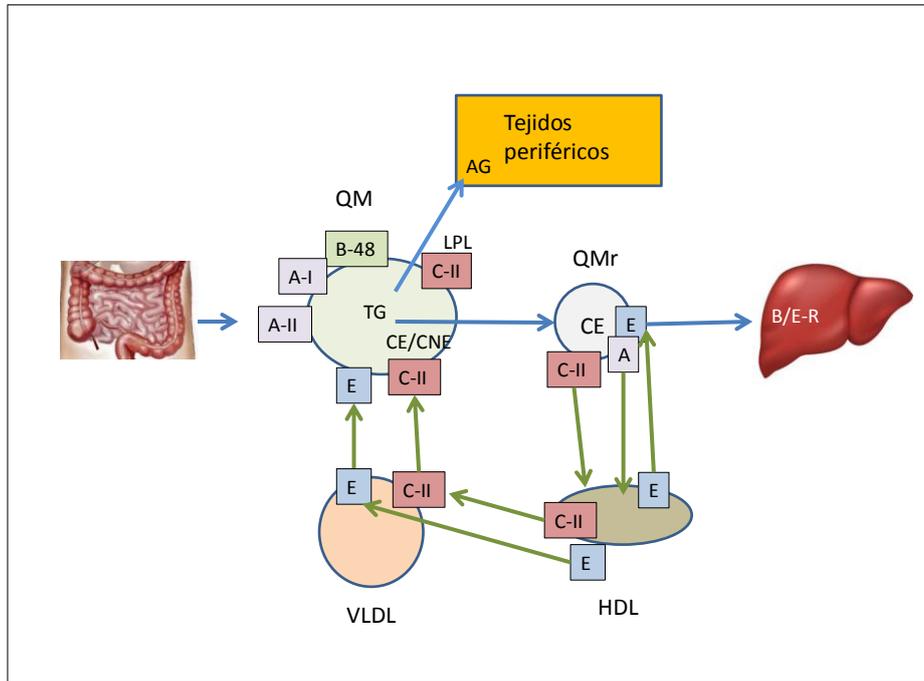


Figura 1. Metabolismo de los quilomicrones (QM). Las apolipoproteínas de los grupos A, B, E se representan con cuadrados. Abreviaturas: AG (ácidos grasos), LPL (lipoproteína lipasa), CE (colesterol esterificado), CNE (colesterol no esterificado), TG (triglicéridos) QMr (quilomicrón remanente), VLDL (lipoproteína de muy baja densidad), HDL (lipoproteína de alta densidad), B/E-R (receptor B/E). Las flechas verdes indican intercambio de apolipoproteínas entre lipoproteínas.

Las VLDL son ensambladas en el hígado de una forma muy similar a como ocurre en los QM en los enterocitos, aunque la proteína clave en el proceso es la apoB-100, como se ha comentado anteriormente. Las VLDL transportan mayoritariamente lípidos sintetizados por el hígado para los distintos tejidos, provenientes del tejido adiposo o sobrantes de los QM en forma de ésteres de colesterol, nuevos ácidos grasos esterificados en forma de triglicéridos y lípidos de membrana (fosfolípidos y colesterol no esterificado). El hígado puede fabricar ácidos grasos también a partir de hidratos de carbono, aminoácidos y alcohol. Se calcula que el hígado llega a sintetizar de 25-50 g de triglicéridos al día, siendo el componente mayoritario de las VLDL. Las apolipoproteínas de las VLDL, sintetizadas por el hígado, son apoB-100 y pequeñas cantidades de apoE y de apolipoproteínas del grupo C. Una vez sintetizadas, se unen los lípidos y son secretadas tras su tránsito por el complejo retículo endoplásmico-Golgi a la sangre y no a la linfa como era el caso de los QM secretados por los enterocitos. También hay que señalar que la apoB-100 es la forma completa de la apoB-48 descrita en los QM. Al igual que ocurría con los QM, las VLDL van adquiriendo con el

tiempo en circulación mayores cantidades de apoE y de apolipoproteínas del grupo C provenientes de las HDL.

A medida que las células del organismo van captando los compuestos lipídicos transportados por las VLDL, éstas van reduciendo su tamaño y se van enriqueciendo en ésteres de colesterol. La captación principal es en aquellos tejidos que en la superficie de las membranas endoteliales tienen la enzima LPL, ya vista con los QM. Estos tejidos son mayoritariamente el adiposo y el músculo esquelético. También lo sería la glándula mamaria durante los procesos de lactancia. La LPL interacciona con la apoC-II, siendo ésta necesaria para su actividad y transferida a los QM y las VLDL por las HDL. Los ácidos grasos producidos tras la actividad LPL son almacenados por el músculo para su posterior utilización en ejercicios aeróbicos. En el caso del tejido adiposo, los ácidos grasos son re-esterificados de nuevo en triglicéridos para ser almacenados. En una situación de ayuno, los triglicéridos del tejido adiposo son hidrolizados y los ácidos grasos resultantes unidos a la albúmina son transportados por sangre a los tejidos. Es importante señalar que en estas situaciones de ayuno, cuando los triglicéridos en plasma están en baja concentración, el músculo es el principal tejido consumidor. Por el contrario, cuando los triglicéridos circulantes están altos (tras una ingesta o en los casos de obesidad), la afinidad del tejido adiposo por éstos es mayor. Finalmente hay que indicar que la LPL se recambia liberándose de la superficie endotelial y siendo captada por diversas lipoproteínas, particularmente por las HDL o recicladas por la propia célula endotelial. (Feingold y Grunfeld, 2000a).

Tal y como ocurría con los QM, las VLDL van perdiendo su contenido en triglicéridos, quedando tan sólo fosfolípidos y colesterol no esterificado. En este punto se transforman en remanentes de VLDL, también llamadas IDL (intermediate density lipoproteins: lipoproteínas de densidad intermedia). De estos remanentes, se pueden desprender porciones de las lipoproteínas que podrían fusionarse con las HDL. Gracias a su menor tamaño y la abundancia de fosfolípidos, las HDL son destruidas por la lipasa hepática. Esta lipasa no es la LPL, sino otra lipasa especializada en eliminar remanentes de lipoproteínas de reducido tamaño que contienen restos de triglicéridos, colesterol y fosfolípidos. Estos remanentes de lipoproteínas estarían constituidos principalmente por las IDL y las HDL que se han intercambiado materiales con IDL. Durante este proceso, las apoE, tal y como se vio para los QM, servirán para la captación hepática de las IDL y estas HDL. Esta captación hepática se hace gracias a la presencia de receptores para apoE, que también reconocen a la apoB-100, por lo que su denominación más correcta sería la de receptores a apoB/E. La lipasa hepática

no es activada por apoC-II y por ello no ataca a los triglicéridos presentes en quilomicrones y VLDL.

Considerando este flujo en su conjunto, la producción de QM y VLDL, y su posterior captación y eliminación en forma de remanentes de QM, IDL y HDL tras repartir triglicéridos y fosfolípidos a los tejidos, puede considerarse como una ruta incompleta, ya que el colesterol esterificado y no esterificado permanece, dando lugar a una lipoproteína especializada en su reparto: las lipoproteínas de baja densidad o LDL (“low density lipoproteins”). (Feingold y Grunfeld, 2000a). Proceso representado en la Figura 2.

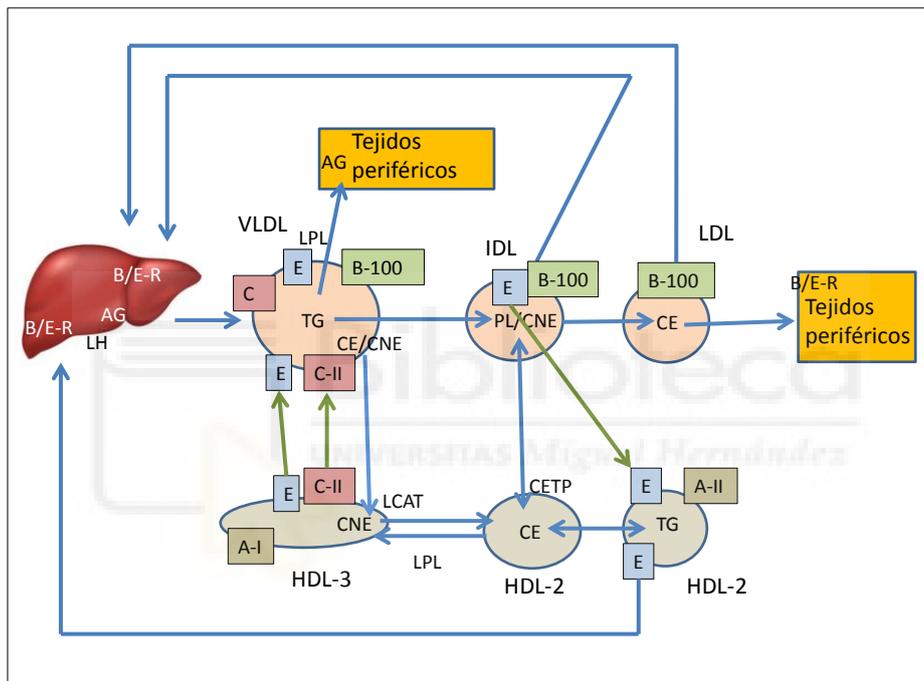


Figura 2. Metabolismo de las VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad). Las apolipoproteínas de los grupos A, B, C y E están representadas en cuadrados. Abreviaturas: TG (triglicéridos), PL (fosfolípidos), CNE (colesterol no esterificado), CE (colesterol esterificado), IDL (lipoproteína de densidad intermedia), LDL (lipoproteína de baja densidad), B/E-R (receptor apo B/E), HDL (lipoproteína de alta densidad), LCAT (lecitina-colesterol acil transferasa), CETP (proteína de transferencia de ésteres de colesterol), LPL (lipoproteína lipasa), LH (lipasa hepática), AG (ácidos grasos).

1.3 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

En todo este trasiego de moléculas lipídicas y de proteínas que se ha comentado anteriormente, puede configurarse una partícula que sólo posea apoB-100 y altos contenidos de colesterol principalmente esterificado. Se trataría de las ya mencionadas LDL. Son complejos en los que predomina el colesterol que es distribuido a las células del organismo que poseen receptores B/E, principalmente músculos, corazón y tejido adiposo. Estos receptores suelen expresarse más cuando las células están sintetizando membranas y reprimirse cuando las membranas están completas. Además, el exceso de colesterol no esterificado aporta rigidez a las membranas y por ello no es bueno para la funcionalidad celular. Para ello, las células diana evitan la interacción con las LDL disminuyendo la síntesis de los receptores B/E. Otro sistema es esterificando al colesterol por la acción de la acil-CoA colesterol acil transferasa (ACAT), aunque esta solución es peor, ya que favorece la vacuolización celular e incrementa los niveles de colesterol intracelular.

Las LDL son las lipoproteínas que más tiempo duran en circulación, hasta 3 días, lo que favorece que sufran modificaciones, sobre todo de tipo oxidativo. Durante el envejecimiento y con un menor recambio de las membranas celulares, la vida media de las LDL en circulación llega a ser incluso mayor. A ello hay que añadir que la secreción de las apoB de QM, VLDL y LDL (apoB-48 por los enterocitos y apoB-100 por el hígado) es un proceso lento y regulado por factores hormonales y nutricionales. Dentro de los hormonales, la insulina y los glucocorticoides son activadores de la secreción, mientras que el glucagón, catecolaminas y hormonas tiroideas son inhibidoras de la secreción.

El hígado es el principal responsable de la eliminación de unos 2/3 de las LDL circulantes. Bien es cierto, que el hígado modula la entrada de colesterol en función de cómo están sus niveles intracelulares, pero la función que tiene como fábrica de las sales biliares hace que este órgano sea la principal vía de escape para el organismo del colesterol de las LDL. Dentro de las LDL hay que considerar 2 subtipos: las LDL densas o subtipo B y las LDL menos densas o subtipo A. Las LDL densas son de pequeño tamaño, típicas de algunas patologías (por ej. hiperlipemia familiar) y con menor contenido lipídico. Sin embargo, su pequeño tamaño hace que interaccionen peor con los receptores B/E y que por ello su degradación no sea tan eficiente. No obstante, un gran tamaño en las lipoproteínas, tal y como ocurre en la obesidad, tampoco asegura su correcta eliminación. La explicación radica en la integración de la lipoproteína en la invaginación de clatrina de la membrana para su endocitosis y eliminación. Este poro tiene un tamaño que es el idóneo para los remanentes de lipoproteínas

o las LDL del subtipo B, pero no para otro tipo de lipoproteínas de muy gran tamaño o de muy pequeño tamaño. (Feingold y Grunfeld, 2000a).

El colesterol liberado en las células, una vez han sido fagocitadas las LDL, pasa al citoplasma en una primera instancia, para transferirse inmediatamente al retículo endoplásmico. El aumento del colesterol en el retículo reprime la actividad de la hidroximetil-glutaril-CoA reductasa, la enzima clave en la síntesis intracelular de colesterol. Además, en el retículo endoplásmico se encuentran asociadas unas proteínas que actúan como precursores de los factores de transcripción SREBP (del inglés “sterol regulatory element-binding protein”). Cuando hay poco colesterol en el retículo, se favorece la hidrólisis parcial de las SREBP, que migran al núcleo y pueden activar la transcripción del gen que codifica el receptor B/E. Esto favorecería la captación de más colesterol extracelular. Cuando el colesterol abunda en el retículo, la proteólisis de las SREBP no se produce, los factores quedan anclados en el retículo y la transcripción del gen que codifica el receptor B/E no se da. Con todos estos mecanismos en su conjunto se regula tanto la síntesis intracelular, como la captación extracelular de colesterol con la idea de conseguir los niveles óptimos celulares (Griffin, 2013).

Existen otro tipo de receptores para captar las LDL, son los receptores “scavenger” o basureros, presentes en macrófagos y células endoteliales. Estos receptores reconocen LDL nativas, así como LDL modificadas, como por ejemplo oxidadas, acetiladas o modificadas por malondialdehído (un producto resultante de la peroxidación lipídica). Tienen una menor afinidad (elevada K_M) por la LDL nativa que los receptores B/E, lo que significa que captan LDL en circulación más eficientemente cuando las cantidades de LDL están elevadas o sus lípidos presentan modificaciones no funcionales (oxidaciones principalmente). Estos receptores, además de eliminar formas aberrantes de LDL, eliminan otras partículas cargadas negativamente, como por ejemplo ciertas proteínas alteradas. En resumen, el 90% de la captación de LDL de la circulación es mediada por el hígado, ovarios, glándulas adrenales, pulmones y riñones, y se realiza a través del receptor B/E. Sin embargo, en otros tejidos, la captación es compartida por los 2 receptores. Por ejemplo, en intestino el 44% de la LDL es captado por receptores “scavenger” y en el bazo, éstos participan en un 72%. La razón es que ambos tejidos son ricos en macrófagos, donde se encuentran los receptores “scavenger”. El problema de estos receptores es que su expresión no está regulada por los niveles intracelulares de colesterol, tal y como ocurría con los receptores B/E. El resultado es una

elevada acumulación de colesterol en los macrófagos ante ingestas dietéticas elevadas. (Feingold y Grunfeld, 2000a).

Cuando las LDL oxidadas son captadas por los macrófagos, las apolipoproteínas son degradadas en la vacuola, pero el colesterol resiste a dicho proceso, al no haber enzimas específicas para ello. Además, el colesterol va esterificándose por la actividad incrementada de la ACAT. Como se ha comentado antes, esto incrementa la vacuolización, transformando a los macrófagos en unas células redondeadas y cargadas de ésteres de colesterol, que se conocen como “células espumosas”. Estas células son retiradas de la circulación pasando a la capa íntima, la capa que se encuentra entre el endotelio y las células musculares lisas de los vasos. Las células van acumulándose atrayendo a plaquetas, incrementando su tamaño y formando lo que se denomina “placa de ateroma”. Estas placas son la causa del endurecimiento de las arterias y del desarrollo de la patología conocida por arteriosclerosis. Además, su desprendimiento puede originar trombos que podrían afectar a órganos vitales, como cerebro y corazón. Por todo ello, la LDL oxidada se considera como un importante factor de riesgo cardiovascular (Maiolino et al., 2013)

Adicionalmente, existe una variante de LDL que se denomina lipoproteína (a). Esta lipoproteína consta de una partícula de LDL (apoB-100, colesterol y ésteres de colesterol) con una apolipoproteína adicional denominada (a) y unida a la LDL por puentes disulfuro. Esta apolipoproteína tiene una alta homología con el plasminógeno, por lo que tiene una potente actividad protrombótica. Niveles elevados de esta lipoproteína también son considerados como importantes marcadores de riesgo cardiovascular (Ramasamy, 2014).

1.4 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Las HDL son sintetizadas en hígado e intestino como una partícula discoidal, no esférica, con una parte central formada por fosfolípidos y colesterol no esterificado, y una parte externa formada por apolipoproteínas. Las apolipoproteínas de las HDL producidas por el hígado son apoA-I, apoA-II, apoE y apolipoproteínas del grupo C, además de contener enzimas tales como la lecitina-colesterol acil transferasa (LCAT) y la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) (ver más adelante) (Rye y Barter, 2014). Por su parte, la HDL intestinal contiene apoA-I como apolipoproteína principal, aunque con el tiempo va adquiriendo otras principalmente de los QM y de las VLDL. Es importante indicar que las HDL no contienen apolipoproteínas del grupo B, lo que las diferencia de los QM, VLDL y LDL. Estas HDL con forma discoidal se les conoce como HDL-3. La secreción de estas lipoproteínas es un proceso

que consume energía en forma de ATP y es llevado a cabo por proteínas ABC (del inglés “ATP-binding cassettes”). Las HDL-3 provenientes del retículo endoplásmico, donde adquieren las apolipoproteínas del grupo A, se quedan ancladas en la cara interna de la membrana plasmática, y por acción de las proteínas ABC pasan a la cara externa para ser liberadas a la circulación por un mecanismo conocido como “flip-flop” (Zannis et al., 2015).

Una vez en circulación, las HDL-3 recogen el colesterol en exceso presente en las membranas de todas las células. Para ello, las HDL-3 interactúan con proteínas ABC a través de la apoA-I. En este contexto, hay que señalar que las proteínas ABC están reguladas por los niveles elevados de colesterol esterificado, aumentando su expresión y favoreciendo su salida al exterior celular. Las HDL-3 también recogen el colesterol de las lipoproteínas que sufren la lipólisis por la actividad LPL vista anteriormente. En este proceso intervienen las 2 enzimas mencionadas anteriormente: LCAT y CETP. La LCAT es una enzima soluble que se une a la HDL donde es activada por apoA-I y la apoA-IV. Cataliza la reacción: $\text{colesterol} + \text{fosfatidilcolina} \rightarrow \text{colesterol-éster} + 2\text{-lisofosfatidilcolina}$. La 2-lisofosfatidilcolina o lisolecitina es transferida a la albúmina, mientras que los ésteres de colesterol permanecen en la HDL-3 que va cambiando su conformación de discoidal a esférica, pasando a denominarse HDL-2. Finalmente, la LCAT es inactivada por apoA-II. Las HDL-2 cargadas de colesterol pueden ceder éste a tejidos esteroideogénicos, como las glándulas adrenales y los ovarios, para la síntesis de hormonas esteroideas. El otro destino de las HDL-2 es el hígado que elimina a las HDL-2 a través de la interacción de las apoE con receptores B/E de la membrana del hepatocito. Justamente, es en este último destino en donde residen las propiedades antiaterogénicas atribuidas a las HDL, ya que el colesterol va a ser eliminado por la vía biliar. Sin embargo, cuando las HDL reparten colesterol a los tejidos esteroideogénicos, se estaría hablando de una simple redistribución del colesterol y no tendría nada que ver con la prevención de la aterogénesis. Por eso, el papel anticolesteromante atribuido a las HDL va a depender del destino de las HDL-2 (Feingold y Grunfeld, 2000a).

Por su parte, la otra enzima CETP o LPT1 efectúa la transferencia de ésteres de colesterol de la HDL-2 a otras lipoproteínas (QM, VLDL) de forma unidireccional o intercambia los ésteres de colesterol por triglicéridos o lípidos oxidados. Existe una isoforma de ésta (LPT-2) que intercambia fosfolípidos y α -tocoferol. En este proceso de transferencia es necesaria la presencia de apoA-IV. Los lípidos oxidados pueden ser eliminados por la actividad paraoxonasa, que está asociada también a la HDL-2 (Eren y Aydin, 2012). Los triglicéridos van incrementando su contenido en las HDL-2, convirtiéndose en sustratos para la LPL de los

tejidos o para la lipasa hepática y ser eliminados de la circulación. La actividad de la LPL descargaría a las HDL-2 de su contenido en lípidos, pasando éstas a convertirse de nuevo en HDL-3 (Figura 2). Por su parte, la eliminación hepática completa de la HDL-2 es mediada por la apoA-II y es la más relevante, ya que las HDL-2 más cargadas estimularían más la actividad de esta lipasa que favorecería la eliminación biliar de los lípidos transportados por la lipoproteína. Esta ruta de transferencia lipídica completaría el papel antiaterogénico ejercido por las HDL-2 (Feingold y Grunfeld, 2000a). Proceso representado en la Figura 3.

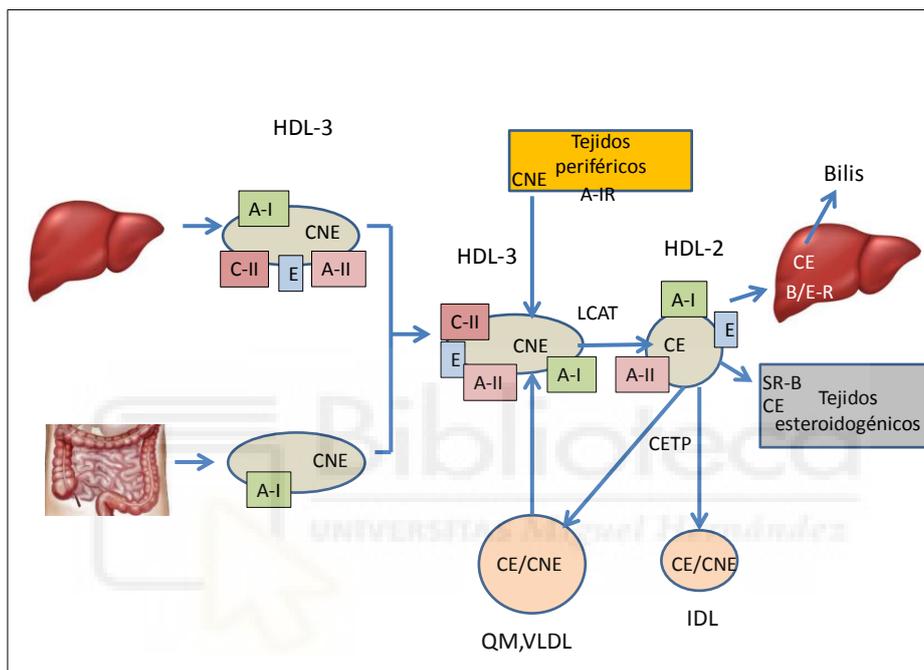


Figura 3. Metabolismo de las HDL (lipoproteínas de alta densidad). Las apolipoproteínas de los grupos A, C y E están representadas en cuadrados. Abreviaturas: CNE (colesterol no esterificado), CE (colesterol esterificado), IDL (lipoproteína de densidad intermedia), QM (quilomicron), VLDL (lipoproteína de muy baja densidad), B/E-R (receptor apo B/E), HDL (lipoproteína de alta densidad), LCAT (lecitina-colesterol acil transferasa), CETP (proteína de transferencia de ésteres de colesterol), LH (lipasa hepática), AG (ácidos grasos), A-Ir (receptor apolipoproteína I), SR-B (receptor scavenger).

1.5 Transporte de ácidos grasos por la albúmina

Existe una última vía de transporte de lípidos en sangre que es exclusiva para ácidos grasos no esterificados. Se trata la interacción de éstos con la albúmina circulante. Esta proteína plasmática puede unir entre 6-9 moléculas de ácidos grasos y representa el sistema de transporte de estas moléculas desde el tejido adiposo a otros órganos, principalmente músculo esquelético. Por otro lado, proteínas de la fracción de las globulinas, como la transcortina, serían las que realizarían el transporte de otros compuestos lipofílicos como por ejemplo algunas hormonas esteroideas como el cortisol.

1.6 Valor diagnóstico de los parámetros lipídicos circulantes

La dislipemia consiste en la alteración de los valores lipídicos circulantes. Esta alteración es uno de los factores de riesgo para sufrir enfermedades cardiovasculares como la cardiopatía coronaria y el accidente cerebrovascular, que son las dos principales causas de muerte en el mundo, con 7,4 y 6,7 millones de muertes respectivamente en 2015. Estas enfermedades suelen acompañar a otras patologías como la obesidad, la hipertensión o la diabetes tipo 2 (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2017).

A nivel mundial, el número de obesos se ha triplicado desde 1975. En 2016, había un 39% de adultos con sobrepeso, un 13% de adultos obesos y un 18% de niños con sobrepeso. El sobrepeso y la obesidad consisten en una acumulación excesiva de grasa en el cuerpo debido al desequilibrio entre la ingesta y el gasto calórico. Para su diagnóstico se utiliza el Índice de Masa Corporal (IMC), que es la relación entre el peso en kilogramos y la altura en metros al cuadrado de un individuo. En los adultos, el $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ establece sobrepeso y $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ para obesidad. Estos valores no son aplicables a niños, en este caso habría que tener en cuenta la edad y aplicar unos percentiles emitidos por las autoridades sanitarias según el país de estudio (OMS, 2018). Las personas con obesidad tienen una probabilidad de entre el 60-70 % de padecer dislipemias, mientras que es de un 50-60% si tienen sobrepeso (Feingold y Grunfeld, 2000b).

Para determinar si las personas con sobrepeso u obesidad presentan dislipemia, se les realiza un análisis sanguíneo convencional tras un ayuno de 8-12 horas. Con esta prueba se pueden determinar los valores de los parámetros lipídicos circulantes como el LDL-colesterol, HDL-colesterol, colesterol total y triglicéridos. Si las concentraciones de colesterol total ($>200 \text{ mg/dl}$), de triglicéridos ($\geq 150 \text{ mg/dl}$) y del LDL-colesterol ($>100 \text{ mg/dl}$) se encuentran por encima de los valores normales y el HDL-colesterol por debajo de 40 mg/dl , se confirma que

padecen una dislipemia asociada a obesidad, como consecuencia de una mala alimentación y del sedentarismo. En la tabla 4 se muestran los distintos valores que se pueden obtener de una analítica convencional en adultos. Sin embargo, en personas menores de 20 años existen algunas diferencias en los valores de colesterol total y LDL-colesterol que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 4: Clasificación perfil lipídico en mg/dl para adultos (National Cholesterol Education Program, 2002).

	Rango	Categoría
Colesterol total (mg/dl)	Deseable	<200
	Límite alto	200-239
	Alto	≥240
LDL-colesterol (mg/dl)	Óptimo	<100
	Casi óptimo	100-129
	Límite alto	130-159
	Alto	160-189
	Muy alto	≥190
HDL-colesterol (mg/dl)	Bajo	<40
	Alto	≥60
Triglicéridos (mg/dl)	Deseable	<150
	Límite alto	150-199
	Alto	200-499
	Muy alto	≥500

Tabla 5: Niveles colesterol total y LDL-colesterol en menores de 20 años.

	Categoría	Rango
Colesterol total (mg/dl)	Deseable	<170
	Límite	170-199
	Alto	≥200
LDL-colesterol (mg/dl)	Óptimo	<110
	Límite	110-129
	Alto	≥130

Como se ha mencionado anteriormente, el colesterol de las LDL es necesario para la síntesis y fluidez de las membranas celulares. Los obesos que consumen dietas que exceden en grasas saturadas presentan niveles altos de LDL-colesterol, pero al mismo tiempo tienen resistencia a la insulina. Esta hormona favorece la síntesis de los receptores B/E a través de un mecanismo que implica la proteólisis y liberación de SREBP (factor de transcripción que migra del

retículo al núcleo). El SREBP (del inglés “Sterol Regulatory Element Binding Protein”) controla la transcripción del gen que codifica el receptor B/E. Si SREBP no es liberado del retículo por proteólisis, la transcripción del receptor B/E no se da. El resultado es que estas lipoproteínas puedan llegar a permanecer hasta 3 días en circulación y sufrir modificaciones como las oxidaciones, que las harían más aterogénicas, llegando a formar placas de ateroma.

Por otro lado, el aumento de los triglicéridos circulantes se debe principalmente al incremento de la producción de VLDL. Las VLDL recogen triglicéridos conteniendo ácidos grasos provenientes de la dieta a través de los remanentes QM, pero también recogen los triglicéridos con ácidos grasos sintetizados de novo por el mismo hígado y que puede utilizar grasa almacenada en el tejido adiposo. Esto es particularmente relevante en personas con obesidad que presentan grandes cantidades de tejido adiposo y consumen dietas ricas en grasa con un mayor aporte de quilomicrones. Por ello, los remanentes de QM formados tras una ingesta excesiva de grasa, son las primeras lipoproteínas aterogénicas en estas patologías. Además, el excesivo consumo de carbohidratos aumenta la lipogénesis hepática de novo a partir de glucosa contribuyendo al aumento de las VLDL (Feingold y Grunfeld, 2000b). Por otro lado, el exceso de ácidos grasos que no pueden utilizarse para la formación de VLDL, se almacenan en el hígado produciendo la enfermedad de hígado graso no alcohólico o esteatosis hepática (Franssen et al., 2011).

Otro motivo por el que existe una mayor cantidad de VLDL en sangre es debido al aumento de los niveles de Apo C-III que inhiben la acción de la LPL en personas obesas insulinoresistentes (Feingold y Grunfeld, 2000b). En estas personas, una ingesta excesiva de grasa incrementa la cantidad de QM, siendo éstos eliminados de la circulación por la LPL. Las VLDL también están cargadas de triglicéridos, pero estas lipoproteínas son de menor tamaño y la LPL tiene menos afinidad por ellas. En estas circunstancias, se produce un incremento de la actividad de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP). Esta enzima efectúa el intercambio de triglicéridos de las VLDL y los QM (lipoproteínas ricas en triglicéridos) por los ésteres de colesterol de las HDL y las LDL (Feingold y Grunfeld, 2000b). El resultado es que las VLDL se convierten en partículas más pequeñas y con capacidad aterogénica (Mika y Sledzinski, 2017).

Por un lado, se forman HDL ricas en triglicéridos sobre las que actúa la LPL o la LH produciendo HDL pequeñas donde la Apo AI se elimina por los riñones. Por lo tanto, al aumentar los niveles VLDL en sangre (hipertriglicéidemia) disminuyen los niveles de HDL-

colesterol y por consiguiente disminuye la capacidad antiaterogénica de las HDL (Feingold y Grunfeld, 2000b).

Por otro lado, a partir de las LDL normales y abundantes en personas con obesidad, se forman las LDL densas y pequeñas (del inglés “small dense LDL”, LDLsd) mediante la acción de la LPL o la lipasa hepática que hidrolizan sus triglicéridos. (Feingold y Grunfeld, 2000b). Las LDL densas y pequeñas interaccionan peor con el receptor B/E, haciendo que permanezcan en circulación hasta 5 días (Kotsis et al., 2019) y por ello son más susceptibles de sufrir modificaciones como oxidaciones, glicosilaciones, etc. Tienen mayor afinidad por los proteoglicanos de las paredes de las arterias y al tener pequeño tamaño pueden introducirse más fácilmente en la íntima arterial. Además, las LDL oxidadas son captadas como cuerpos extraños por los receptores “scavenger” de los macrófagos circulantes, dando lugar a células cargadas de grasa (células espumosas). Estas células no pueden degradar los lípidos captados, tendiendo a salir de la circulación y depositándose en la capa íntima arterial. Por todo ello, las LDL densas y pequeñas y las LDL oxidadas son más aterogénicas que las LDL normales. (Feingold y Grunfeld, 2000b).

Como se ha mencionado, las personas con sobrepeso y obesidad que sean dislipémicos tienen mayor probabilidad de padecer hipertensión, enfermedad cardiovascular y diabetes tipo 2. El exceso de remanentes de QM y VLDL cargados de ésteres de colesterol, conjuntamente con las LDL densas y pequeñas y las LDL oxidadas, contribuyen a la formación de la placa de ateroma. La diabetes tipo 2, que podría considerarse como la culminación del proceso, se caracteriza por una falta de reconocimiento de la hormona por parte de los tejidos. Esta “ceguera” a la insulina se compensa a través de una secreción aumentada por parte de las células β -pancreáticas, resultando en una hiperinsulinemia. Con el tiempo, las células β se agotan, la insulina deja de producirse y se instala la diabetes tipo 2, caracterizada por presentar al mismo tiempo niveles circulantes elevados de glucosa (hiperglucemia) y de lípidos (hiperlipemia o dislipemia). La solución a este problema es de tipo preventivo y pasa por hacer dieta y ejercicio para normalizar el peso corporal y los parámetros circulantes alterados. Si los niños y adolescentes tienen sobrepeso u obesidad, cuando sean adultos tendrán más probabilidades de sufrir las enfermedades mencionadas. Las dietas ricas en grasas saturadas tienden a favorecer la dislipemia y la aparición de la enfermedad cardiovascular. Para evitarlo, las autoridades sanitarias recomiendan incrementar el consumo de alimentos ricos en grasas poliinsaturadas, que contribuyen a disminuir las LDL y aumentar las HDL, a través de un aumento de la expresión de LPL y Apo C-II.

El riesgo cardiovascular se calcula a partir del índice aterogénico que consiste en dividir el colesterol total circulante entre el HDL-colesterol. Si el valor obtenido es mayor o igual que 4,5 significa que existe un alto riesgo cardiovascular y alta probabilidad de padecer arterioesclerosis. Se pueden formar placas de ateroma que si se desprendiesen podrían obstruir las arterias del corazón o del cerebro. Por lo tanto, cuanto más bajo sea dicho índice, menor probabilidad de llegar a desarrollar enfermedades cardiovasculares.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal que se pretende con este trabajo es estudiar el perfil de las lipoproteínas circulantes en una población de adolescentes obesos inmersos en un programa de reducción de peso con dieta y ejercicio comparados con una población control de adolescentes de su misma edad y estado de maduración con normopeso.

Por todo ello, el objetivo específico de este TFM es:

- 1- Detectar marcadores que tengan valor diagnóstico en adolescentes obesos para conocer si tienen predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares en la edad adulta.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Sujetos

28 adolescentes con obesidad severa fueron admitidos en un centro de tratamiento de la obesidad al sur de Francia. El diagnóstico se hizo de acuerdo a los puntos de corte de edad y sexo señalados por "International Obesity Task". La obesidad severa fue diagnosticada cuando IMC z fue superior a 3. Los controles fueron 21 adolescentes sanos con normopeso de la misma edad y estado puberal. Todos los participantes eran normotensos (tensión arterial sistólica y diastólica por debajo del percentil 95 de acuerdo a la edad, el sexo y la altura), no diabéticos, no fumadores y no presentaban comorbilidades relacionadas con la obesidad. Se excluyeron participantes que presentasen enfermedades cardiovasculares prematuras en su historia familiar, tratamiento con medicamentos, estado puberal según la escala de Tanner menor de 2, pérdida de peso superior 5% con respecto a su peso habitual los 3 meses previos al reclutamiento y aquellos que no eran sedentarios (más de 3 horas de actividad física por semana).

A ambos grupos se les midieron parámetros antropométricos al inicio y al final de la intervención como la circunferencia de la cintura, IMC, altura y peso, con la idea de determinar el tipo de obesidad. Se realizaron 2 extracciones de sangre al inicio y al final y se determinaron diferentes parámetros circulatorios. En el presente TFM se prestó especial atención a la glucemia y a parámetros que informaban sobre el perfil lipídico circulatorio, como el colesterol total, HDL-colesterol, triglicéridos y el LDL-colesterol. Dichas determinaciones fueron realizadas en laboratorios colegiados, utilizando la metodología establecida por las autoridades sanitarias (ver más adelante).

El grupo de adolescentes con obesidad severa se sometió a un programa de reducción de peso con ejercicio y dieta. Se realizaron mediciones de todos los parámetros mencionados durante la primera semana y a los 4 meses tras la finalización del programa. La dieta a la que se sometieron era hipocalórica y equilibrada con un 55% de carbohidratos, 15% proteínas y un 30% de grasas de las cuales las saturadas eran menores al 10% para poder conseguir una reducción de 300 o 500 Kcal al día aproximadamente. El ejercicio físico que realizaban consistía en 4 sesiones de 90 minutos a la semana con componente aeróbico-intervalo como el tenis, baile y juegos recreativos para intentar concienciar de la importancia del deporte de una forma lúdica.

3.2 Determinación del perfil lipídico y glucemia circulantes

Dado que se requiere aplicar un método invasivo (extracción sanguínea), las determinaciones se realizaron en un laboratorio homologado y colegiado. Las determinaciones referentes al perfil lipídico circulante se realizaron de forma automatizada aplicando métodos enzimáticos. Éstas incluyen la determinación de los niveles de colesterol total, triglicéridos, LDL-C y HDL-C.

El colesterol total y los triglicéridos se miden mediante métodos enzimáticos acoplados a reacciones colorimétricas. En el caso del colesterol total, una primera reacción es catalizada por la colesterol esterasa. En esta reacción se elimina el ácido graso esterificado en el colesterol, rindiendo colesterol libre que es el único sustrato que reconoce la enzima colesterol oxidasa. Posteriormente, la reacción catalizada por la colesterol oxidasa produce un derivado oxidado del colesterol y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-amino-fenazona en presencia de peroxidasa rindiendo una quinona coloreada que se determina espectrofotométricamente. La secuencia de reacciones queda esquematizada como sigue:

- 1) Colesterol esterasa: Éster de colesterol + H₂O → Colesterol + Ácido graso
- 2) Colesterol oxidasa: Colesterol + O₂ → Colest-4-en-3-ona + H₂O₂
- 3) Peroxidasa:

$$\text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-amino-fenazona} \rightarrow 4(\text{p-benzoquinona-monoimino})\text{-fenazona} + \text{H}_2\text{O}$$

Para determinar los triglicéridos presentes en la muestra, se utiliza la reacción catalizada por la triglicérido lipasa que produce glicerol. El glicerol liberado es fosforilado por la glicerol-kinasa, rindiendo glicerol-1-fosfato. Este metabolito en presencia de glicerol-fosfato oxidasa produce dihidroxiacetona-fosfato y peróxido de hidrógeno, que es acoplado a la misma reacción colorimétrica descrita anteriormente por la acción de la peroxidasa. La secuencia de reacciones queda esquematizada como sigue (McPherson y Pincus, 2017):

- 1) Triglicérido lipasa: Triglicérido → Glicerol + 3 Ácidos grasos
- 2) Glicerol kinasa: Glicerol + ATP → Glicerol-fosfato + ADP
- 3) Glicerol-fosfato oxidasa:

$$\text{Glicerol-fosfato} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Dihidroxiacetona-fosfato} + \text{H}_2\text{O}_2$$
- 4) Peroxidasa:

$$\text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-amino-fenazona} \rightarrow 4(\text{p-benzoquinona-monoimino})\text{-fenazona} + \text{H}_2\text{O}$$

La medición de HDL-C se realiza mediante ensayos homólogos a los descritos anteriormente que utilizan las enzimas selectivas utilizadas para la determinación de colesterol total, pero modificadas con polietilenglicol o con sulfato de dextrano. La colesterol esterasa y oxidasa modificadas de esta forma muestran una alta especificidad hacia las partículas de HDL (McPherson y Pincus, 2017).

La determinación de los niveles de LDL-C normalmente se realiza de forma indirecta mediante la fórmula de Friedewald (LDL-C = colesterol total – HDL-C – VLDL-C) donde el VLDL-C se calcula como TG/5. También se puede realizar la ultracentrifugación, pero esta técnica no es tan habitual en los laboratorios, presentando una complejidad mayor (Pedro-Botet et al., 2018).

Finalmente, la medición de la glucosa también se realiza por métodos enzimáticos que utilizan glucosa oxidasa, acoplados a reacciones colorimétricas, según la siguiente secuencia de (McPherson y Pincus, 2017):

1) Glucosa oxidasa: $\text{Glucosa} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Gluconolactona} + \text{H}_2\text{O}_2$

2) Peroxidasa:



3.3 Lipoprint®

Es una técnica que permite separar subfracciones de lipoproteínas aplicando una electroforesis en gel de poliacrilamida lineal y no desnaturizante. El colorante usado (negro de Sudán) se une proporcionalmente al contenido en colesterol de cada fracción de lipoproteínas. Las muestras de plasma fueron obtenidas tras centrifugar a 2000xg durante 15 min las muestras de sangre recolectadas en tubos EDTA. Los sobrenadantes (fracción de plasma) fueron congelados a -80°C hasta su análisis utilizando el sistema Lipoprint® (Quantimetrix Corporation, Redondo Beach, California). Antes de cargar en el gel, 25 μL de las muestras descongeladas fueron mezcladas con 200 μL de líquido de carga conteniendo negro de Sudán. La mezcla resultante se mezcla con poliacrilamida líquida para formar un gel de carga y es colocada en la parte superior de un tubo de poliacrilamida de alta resolución al 3% (gel de resolución) ya polimerizada. La poliacrilamida del gel de carga es fotopolimerizada durante 30 min. La electroforesis se realiza a 3 mA/gel en tubo durante 1h. Una vez finalizada la migración, los tubos se dejan en oscuridad 1h adicional (Figura 4). Finalmente, los tubos son analizados por un sistema densitométrico que trabaja a 610 nm. Las absorbancias de las distintas fracciones de lipoproteínas son analizadas a través de un sistema informatizado (Quantimetrix). El programa proporciona un densitograma para cada muestra que colorea las distintas subfracciones de lipoproteínas para su más fácil identificación (Figura 5 y 6).

Las subfracciones de las HDL son resueltas dejando migrar las bandas, tomando la albúmina como referencia para detener la migración. Para las subfracciones LDL, la migración se deja continuar tomando como referencia las bandas de las HDL de mayor tamaño para detener la migración. El software Lipoware genera un perfil lipoproteico completo para cada una de las muestras en el que se representan mediante un densitograma los resultados obtenidos para cada sujeto. Por lo tanto, es una forma sencilla para poder conocer cuáles son las subfracciones lipoproteicas más aterogénicas.

Una de las limitaciones de esta técnica es que no se pueden utilizar muestras de sangre con heparina ya que podría interferir con el aislamiento de las diferentes subfracciones de las LDL. Sin embargo, sí que se pueden utilizar muestras con EDTA. Además, la muestra debe

presentar una concentración de colesterol superior a 100 mg/dl para que los valores de colesterol de las VLDL no se sobreestimen.

Una de las consideraciones antes de realizar la técnica es la presencia de turbidez tras la refrigeración nocturna que determina la presencia de quilomicrones y por lo tanto no se debería realizar la técnica, ya que no correspondería a sangre extraída en ayunas. Se ha

tomado de Quantimetrix (https://quantimetrix.com/wp-content/uploads/LipoprintLDLTestKit_Espan%CC%83ol_REF-48-7002.pdf)

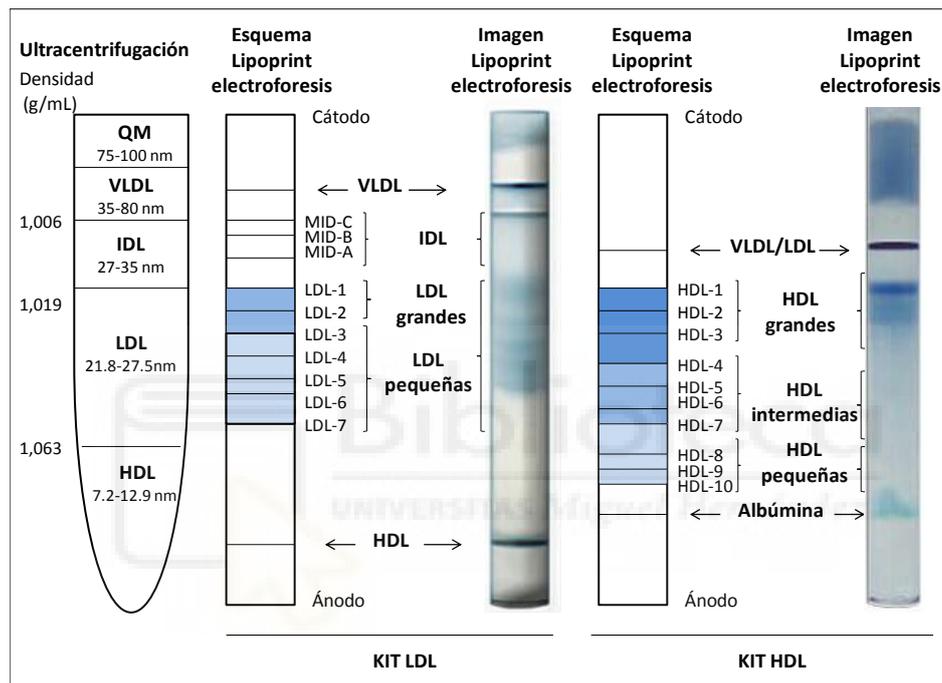


Figura 4. Representación de las fracciones y subfracciones de lipoproteínas en gel de electroforesis utilizando el sistema Lipoprint[®] en comparación con la ultracentrifugación para una muestra. Abreviaturas: QM (quilomicrones), VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), LDL (lipoproteínas de baja densidad), HDL (lipoproteínas de alta densidad), MID (del inglés “midband”: banda intermedia).

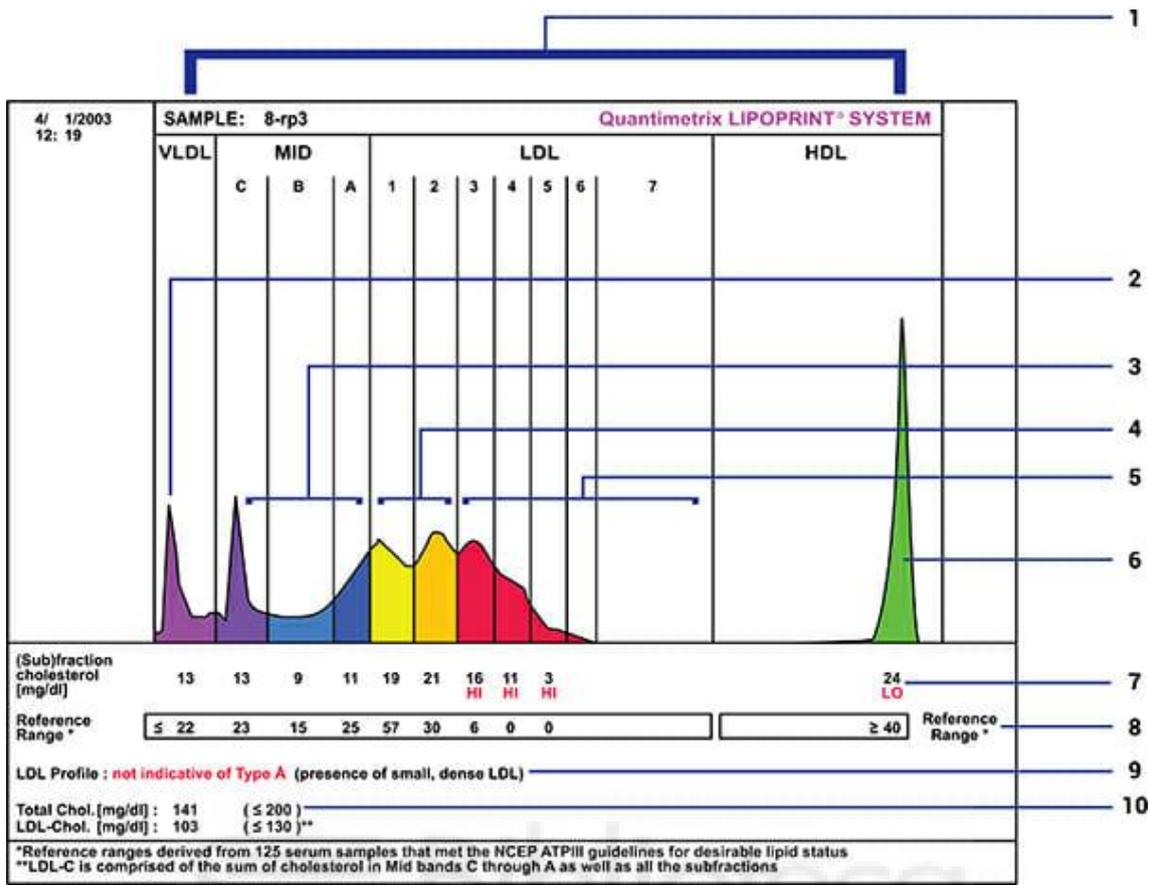


Figura 5. Densitograma de las subfracciones de LDL. Tomado de Quantimetrix (<https://quantimetrix.com/lipoprint/lipoprint-profile/>)

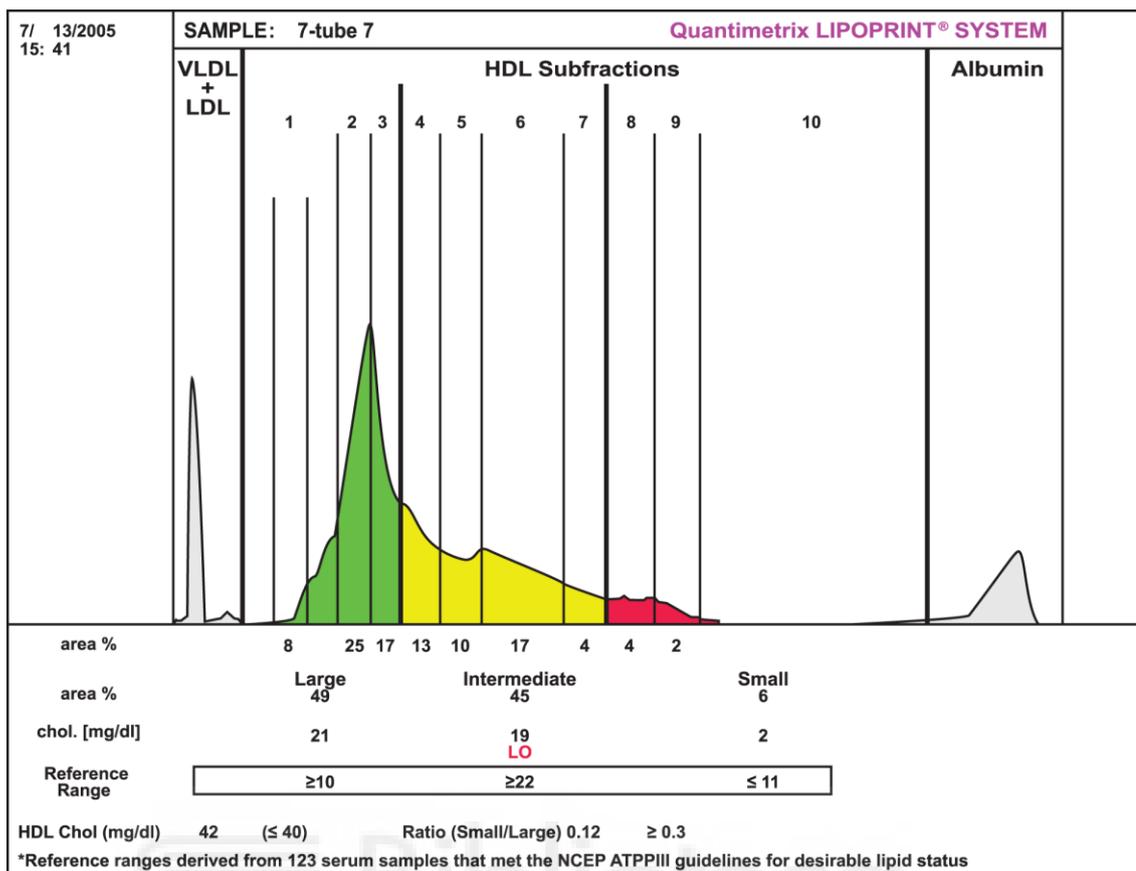


Figura 6. Densitograma de las subfracciones de HDL. Tomado de Quantimetrix (<https://quantimetrix.com/lipoprint/lipoprint-hdl-subfractions-test/>)

3.4 Tratamiento estadístico

Los resultados se expresan como medias \pm error standard de la media ($X \pm SEM$). Los datos fueron analizados con el programa SPSS para ver si seguían una distribución normal aplicando el test KS (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las variables mediante el test de Levene. La comparativa entre los sujetos obesos al inicio *vs* final del estudio se realizó mediante una t de Student, al igual que la comparativa entre obesos inicio/final *vs* controles.

4. RESULTADOS

Se han obtenido los perfiles lipídicos y datos antropométricos de los adolescentes con obesidad severa al inicio y a los 4 meses de la intervención y de los controles con normopeso. Los perfiles lipídicos fueron estudiados a partir de muestras de plasma mediante análisis convencional y Lipoprint®.

4.1 Características demográficas y antropométricas

Los adolescentes con obesidad severa llevaban un estilo de vida sedentario (menos de 3 h semanales de actividad física moderada-intensa) antes de que fuesen admitidos en el centro para el tratamiento de la obesidad. Durante el programa, los participantes aumentaron significativamente la duración de la actividad física a 6 horas semanales. Los datos demográficos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6: Datos demográficos de los participantes.

	Obesos inicio	Obesos final	Controles
n	28	28	21
Género (chicos/chicas)	8/20	8/20	9/12
Edad (años)	13,54 ± 0,21 ^{&}	13,88 ± 0,22 ^{*†}	15,22 ± 0,29
Altura (cm)	163,50 ± 1,20	163,80 ± 1,27 [*]	165,5 ± 1,97
Ejercicio (horas/semana)	2,33 ± 0,51	6,0 ^{*†}	2,66 ± 0,39

Los datos son expresados como media ± SEM.

* p<0,05 diferencias significativas entre obesos inicio vs obesos final.

& p<0,005 diferencias significativas entre obesos inicio vs controles.

† p<0,005 diferencias significativas entre obesos final vs controles.

Como dato más significativo, cabe destacar que los controles realizando un número similar de actividad física semanalmente, no desarrollaban obesidad. Los recordatorios de la ingesta de este grupo de población mostraban una calidad similar en macronutrientes, con un consumo predominante de proteínas y grasa saturada, aunque presentaban un consumo calórico muy inferior. Tampoco se descarta un componente genético que estaría por estudiar.

Tabla 7: Datos antropométricos de los participantes.

	Obesos inicio	Obesos final	Controles
Peso (kg)	88,00 ± 2,85 ^{&}	80,37 ± 2,55 ^{*†}	54,73 ± 2,30
IMC (kg/m ²)	32,78 ± 0,84 ^{&}	29,91 ± 0,80 ^{*†}	19,86 ± 0,61
IMC-Z	4,06 ± 0,15 ^{&}	3,34 ± 0,14 ^{*†}	0,15 ± 0,25
ICC	0,99 ± 0,02	0,95 ± 0,02 [*]	
Masa grasa (kg)	36,23 ± 2,03 ^{&}	29,52 ± 2,04 ^{*†}	19,06 ± 1,74
% grasa	39,80 ± 1,39 ^{&}	36,33 ± 1,74 [†]	24,15 ± 2,75
Masa magra (kg)	50,50 ± 1,42 ^{&}	50,85 ± 1,45 ^{*†}	36,58 ± 2,18

Los datos son expresados como media ± SEM. IMC= índice de masa corporal; ICC= índice cintura/cadera.

* p<0,05 diferencias significativas entre obesos inicio vs obesos final.

& p<0,005 diferencias significativas entre obesos inicio vs controles.

† p<0,005 diferencias significativas entre obesos final vs controles.

Antes de empezar la intervención, los obesos presentaban valores de peso, IMC, IMCz, masa magra, masa y porcentaje de grasa significativamente superiores a los de los controles con normopeso. Después de 4 meses, el peso de los obesos disminuyó significativamente con una pérdida de 7,6 kg. También, disminuyeron significativamente el resto de parámetros antropométricos relacionados con obesidad. A pesar de las mejoras, aún existían diferencias significativas entre los obesos al final y los controles (Tabla 7). Los adolescentes con obesidad pasaron de tener una obesidad grado II a tener un sobrepeso. Por lo tanto, aún quedaba trabajo por hacer para alcanzar el normopeso, pero dicho trabajo continuaría en el domicilio de los participantes bajo la supervisión del equipo médico del Hospital. Por tanto, se desconoce si se alcanzaron los objetivos prefijados al inicio de la intervención.

4.2 Perfil lipídico y glucemia circulantes según analítica convencional

Tabla 8: Perfil lipídico de los participantes según analítica convencional.

	Obesos inicio	Obesos final	Controles	Rango de referencia
Colesterol total (mg/dl)	140,50 ± 5,13 ^{&}	156,70 ± 6,85 [*]	171,10 ± 6,82	<200
Triglicéridos (mg/dl)	78,96 ± 5,85	87,36 ± 6,71	83,95 ± 10,87	<150
HDL (mg/dl)	42,46 ± 1,94 ^{&}	45,12 ± 1,63 ^{*†}	55,81 ± 2,05	>40
LDL (mg/dl)	82,18 ± 4,20 ^{&}	94,08 ± 5,56 [*]	98,57 ± 5,55	<100
Colesterol total/ HDL	3,44 ± 0,17	3,51 ± 0,14 [†]	3,12 ± 0,13	<4,5

Los datos son expresados como media ± SEM. HDL= lipoproteína de alta densidad;

LDL= lipoproteína de baja densidad.

* p<0,05 diferencias significativas entre obesos inicio vs obesos final.

& p<0,005 diferencias significativas entre obesos inicio vs controles.

† p<0,005 diferencias significativas entre obesos final vs controles.

Según la analítica convencional, los niveles de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y colesterol total/HDL de los obesos y de los controles estaban dentro del rango saludable tanto al inicio como al final del programa. Cabe destacar que al final de la intervención, los valores de las HDL de los obesos aumentaron significativamente manteniéndose dentro del rango óptimo (Tabla 8).

Otro dato que se obtuvo de la analítica fue la glucemia, que en los controles y en los obesos tanto al inicio como al final, estaba dentro del rango saludable (70-100 mg/dl).

4.3 Perfil lipídico a partir de la técnica de Lipoprint®

Tabla 9: Perfil lipídico de los participantes según Lipoprint®.

	Obesos inicio	Obesos final	Controles	Rango de referencia
VLDL (mg/dl)	27,14 ± 1,60	30,26 ± 1,94*	28,79 ± 2,41	≤ 22
IDL-C (mg/dl)	23,05 ± 1,51	19,87 ± 1,39	19,93 ± 1,96	≤ 23
IDL-B (mg/dl)	11,33 ± 0,73 ^{&}	12,57 ± 0,92	15,36 ± 1,22	≤ 15
IDL-A (mg/dl)	16,90 ± 1,00 ^{&}	18,13 ± 1,20 [†]	23,50 ± 1,54	≤ 25
LDL-1 (mg/dl)	24,29 ± 1,55	25,09 ± 1,46	25,50 ± 1,53	≤ 57
LDL-2 (mg/dl)	4,67 ± 0,72	5,91 ± 0,72	6,71 ± 0,92	≤ 30
LDL-3 (mg/dl)	0	0,17 ± 0,10 [†]	0,86 ± 0,29	≤ 6
LDL-4 (mg/dl)	0	0	0	0
LDL-5 (mg/dl)	0	0	0	0
LDL-6 (mg/dl)	0	0	0	
LDL-7 (mg/dl)	0	0	0	
HDL (mg/dl)	37,10 ± 1,50 ^{&}	43,57 ± 1,50* [†]	54,29 ± 2,48	≥ 40
TC (mg/dl)	144,62 ± 5,91 ^{&}	155,61 ± 7,29*	176,00 ± 7,52	≤ 200
Total LDL (mg/dl)	80,29 ± 3,87	81,61 ± 4,79	91,86 ± 5,08	≤ 130
HDL-1 (mg/dl)	1,10 ± 0,22 ^{&}	2,44 ± 0,40* [†]	5,77 ± 0,97	
HDL-2 (mg/dl)	4,33 ± 0,40 ^{&}	5,30 ± 0,48 [†]	9,62 ± 1,07	
HDL-3 (mg/dl)	4,62 ± 0,53	4,87 ± 0,39	6,39 ± 0,80	
HDL-4 (mg/dl)	5,05 ± 0,61	5,09 ± 0,34	5,92 ± 0,64	
HDL-5 (mg/dl)	5,48 ± 0,26 ^{&}	5,91 ± 0,24 [†]	6,69 ± 0,26	
HDL-6 (mg/dl)	10,05 ± 0,50 ^{&}	10,52 ± 0,43 [†]	11,92 ± 0,31	
HDL-7 (mg/dl)	2,95 ± 0,19 ^{&}	3,09 ± 0,19 [†]	3,69 ± 0,21	
HDL-8 (mg/dl)	2,71 ± 0,16 ^{&}	2,57 ± 0,16 [†]	3,39 ± 0,24	
HDL-9 (mg/dl)	2,14 ± 0,14	1,78 ± 0,34	2,46 ± 0,22	
HDL-10 (mg/dl)	1,86 ± 0,25		2,54 ± 0,45	
HDL grandes (mg/dl)	9,91 ± 0,86 ^{&}	12,61 ± 0,91 [†]	21,69 ± 2,53	≥ 10
HDL intermedias (mg/dl)	23,52 ± 1,44 ^{&}	24,65 ± 0,91 [†]	28,15 ± 1,00	≥ 22
HDL pequeñas (mg/dl)	6,67 ± 0,45	6,39 ± 0,64	8,31 ± 0,87	≤ 11
HDL total (mg/dl)	40,14 ± 2,27 ^{&}	43,83 ± 1,34* [†]	58,23 ± 2,65	≥ 40

Los datos son expresados como media ± SEM. VLDL= lipoproteína de muy baja densidad; IDL= lipoproteína de densidad intermedia; LDL= lipoproteína de baja densidad; HDL= lipoproteína de alta densidad; TC= colesterol total.

* p<0,05 diferencias significativas entre obesos inicio vs obesos final.

& p<0,005 diferencias significativas entre obesos inicio vs controles.

† p<0,005 diferencias significativas entre obesos final vs controles.

Según el perfil lipídico obtenido con Lipoprint, en los obesos las subfracciones de las IDL estaban dentro del rango de referencia a excepción de las IDL-C, cuyo valor al inicio de la intervención era casi óptimo, siendo esta diferencia no significativa.

En los obesos las subfracciones de las LDL estaban dentro del rango saludable al inicio y al final. Por lo tanto, no informan sobre la predisposición a sufrir enfermedades cardiovasculares en el futuro. Mientras que, las subfracciones de las HDL mejoraron tras la intervención, siendo las HDL-1 y la fracción total las que aumentaron significativamente. Sin embargo, aún seguían existiendo diferencias significativas con los controles en las HDL grandes e intermedias pero esta diferencia no era tan grande como al inicio del programa. Por lo tanto, las HDL podrían ser consideradas marcadores con valor diagnóstico en este segmento poblacional ya que serían indicativas de progresión hacia enfermedad cardiovascular en la edad adulta (Tabla 9).

Otras lipoproteínas como las VLDL no estaban dentro de los valores normales en ninguno de los grupos y no mejoraron tras el programa. Por el momento, se desconoce cómo interpretar estos resultados, aunque esta fracción lipídica tiene menos valor diagnóstico que las subfracciones de LDL y HDL.

5. DISCUSIÓN

Tal y como se ha comentado en Material y Métodos, los sujetos fueron reclutados en un centro para el tratamiento de la obesidad situado en el Sur de Francia. Los que no cumplían con los criterios establecidos en el estudio fueron excluidos. Una parte de las muestras de plasma fueron enviadas a la Universidad Miguel Hernández de Elche para determinar el perfil lipídico por la técnica de Lipoprint®. Sujetos de la misma área geográfica que realizaban un volumen similar de actividad física, pero que no presentaban obesidad, fueron reclutados como controles. Los datos antropométricos y los parámetros determinados mediante analíticas convencionales fueron enviados por correo electrónico para poder realizar el presente TFM.

5.1 Características demográficas y antropométricas

Antes de empezar el programa de dieta y ejercicio, los adolescentes obesos y los controles con normopeso realizaban aproximadamente las mismas horas de ejercicio a la semana, pero sus parámetros antropométricos eran significativamente diferentes. Al no estar supervisada la actividad física por acelerometría, se desconoce si realmente el ejercicio se realizaba a la intensidad que indicaron los participantes. De acuerdo con Stoner et al. (2016), los obesos al

inicio de una intervención suelen presentar una mayor dificultad para realizar ejercicio de la misma intensidad que los controles, ya que su sistema cardiovascular y osteomuscular tiene que realizar un esfuerzo mayor para movilizar grandes masas. La posible explicación para las diferencias en la composición corporal residiría en la dieta que seguían habitualmente los sujetos y que fue declarada en los recordatorios de ingesta nutricional. En ellos, se observaba que los sujetos obesos ingerían más kcal que las gastadas con una dieta en la que abundaban alimentos conteniendo grandes cantidades de grasa saturada y azúcares simples, tales como bollería industrial, golosinas, snacks de picoteo y carnes rojas. No obstante, los recordatorios de la ingesta son estimaciones subjetivas, donde habitualmente los encuestados tienden a subestimar la cantidad y calidad de los alimentos consumidos. Finalmente, no hay que olvidar la susceptibilidad genética que presentan algunos individuos a desarrollar obesidad y que sólo sería determinante en un ambiente obesigénico como en el que vivían los sujetos ingresados en el centro. No obstante, no se realizó extracción de ADN por lo que esta cuestión no pudo ser abordada en el presente estudio.

La OMS (2010) recomienda que los adolescentes realicen 6 horas semanales de ejercicio para conseguir beneficios en la salud, entre los se encuentran las mejoras en el sistema cardiovascular, respiratorio y osteomuscular. La intensidad y la duración deben de incrementarse con rutinas específicas y adaptadas a los cambios en composición corporal. Debido a estas adaptaciones, los adolescentes obesos pueden realizar ejercicio a la intensidad recomendada controlando la fatiga. Por lo tanto, con el entrenamiento diario y la dieta hipocalórica, los obesos adolescentes lograron disminuir significativamente su peso, IMC, IMCz, masa grasa y porcentaje de grasa tras 4 meses de intervención. Sin embargo, aún siguieron existiendo diferencias significativas con los controles, ya que los adolescentes intervenidos aún presentaban sobrepeso. Se desconoce si llegaron a los objetivos planteados ya que siguieron realizando el programa en el domicilio bajo la supervisión del equipo médico del Hospital como se ha mencionado anteriormente.

Estos resultados coinciden con el estudio de Nemet et al. (2005) realizado en adolescentes obesos que demuestra que con dieta y un mes menos de entrenamiento ya se consiguió una disminución del peso, IMC y el porcentaje de grasa. Tras un año de seguimiento, se obtuvieron mayores mejoras en estos parámetros, rondando el normopeso. Estos resultados indican claramente que la pérdida de peso es un proceso largo que requiere una fuerte motivación por parte de los implicados así como de sus familiares. El abandono de estas

rutinas correctoras puede tirar a la basura duros meses de sacrificio. Por ello, la ayuda psicológica es de vital importancia para conseguir los objetivos fijados.

5.2 Perfil lipídico y glucemia circulantes según analítica convencional

Según la analítica convencional, el colesterol total, LDL, HDL y los triglicéridos se encuentran dentro del rango saludable en los adolescentes obesos. Estos resultados coinciden con el estudio de Chen et al. (2006). Por lo tanto, estos parámetros determinados por analítica convencional no tienen valor diagnóstico en adolescentes ya que no informan del riesgo de padecer una futura enfermedad cardiovascular. Todo lo contrario sucede en adultos, en los que la analítica convencional permite inferir datos fiables. A ello se une la dificultad de interpretar los valores obtenidos para las HDL en este tipo de analíticas, donde puede observarse valores elevados de HDL en personas con obesidad. Por lo tanto, la analítica convencional no da información sobre la predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares, al menos en la población adolescente.

En la investigación de Montero et al. (2014) realizada en los mismos participantes, ya se demostraba que presentaban resistencia a la insulina en el músculo liso de la vasculatura. Dicha resistencia se determinó midiendo por laser-doppler una actividad miogénica disminuida en respuesta a la insulina administrada por iontoforesis. Sin embargo, las analíticas convencionales no mostraban hiperglucemia, paso previo para el desarrollo de una futura resistencia a la insulina. Por ello, la hiperglucemia crónica se corresponde con los últimos estadios en el desarrollo de resistencia a la insulina. Es en estos momentos cuando la intervención terapéutica tendría menos éxito y un mayor coste a la sanidad pública. Esta observación viene corroborada por los bajos niveles en las LDL pequeñas (fracciones LDL-3 a LDL-7 en Tabla 4.3). Los niveles de estas fracciones aumentan cuando los sujetos padecen síndrome metabólico o diabetes tipo 2. Por lo tanto, se hace necesario implementar técnicas de diagnóstico (como el laser-doppler) que permitan establecer la transición hacia un problema de resistencia a la insulina y actuar antes de que ésta se produzca. El mismo razonamiento podría hacerse extensivo para prevenir una patología cardiovascular, para la cual, la analítica convencional no brinda información suficiente.

No obstante y de acuerdo con Stoner et al. (2016), la sensibilidad a la insulina puede mejorar rápidamente si es detectada a tiempo en sus primeros estadios. En este contexto, el estudio de Marson et al. (2016) demuestra que el entrenamiento aeróbico de más de 2 meses combinado con dietas hipocalóricas disminuye la resistencia a la insulina al inicio. Este tipo de

intervención tiene mucho menos coste para la sanidad pública que los protocolos farmacológicos/quirúrgicos que se utilizan una vez este problema se ha establecido de forma persistente. Finalmente, también existe un componente genético todavía por determinar, que podría condicionar el tipo de tratamiento.

5.3 Perfil lipídico a partir de la técnica de Lipoprint®

Antes de empezar el programa de dieta y ejercicio, los adolescentes obesos presentaban niveles de las HDL grandes por debajo del nivel normal. Las IDL-C tampoco estaban dentro de los valores óptimos. Ambos parámetros se consideran indicadores de riesgo cardiovascular a pesar de estar muy próximos a los valores normales. Las HDL pequeñas e intermedias estaban dentro del rango normal. De acuerdo con el estudio de Xu et al. (2015), las HDL pequeñas se pueden encontrar elevadas cuando se presenta una enfermedad cardiovascular. Por otro lado, los sujetos no presentaban LDL pequeñas que son indicadoras también de riesgo cardiovascular, ya que éstas suelen aparecer más habitualmente en edades avanzadas, sobre todo a partir de los 40 años, aunque en jóvenes se pueden encontrar en bajas concentraciones (Goliasch et al., 2012). El resto de subfracciones de las LDL se encuentran dentro del rango saludable. Por lo tanto y a diferencia de la información obtenida por la analítica convencional, algunos datos del Lipoprint® informan de una forma muy sutil de la predisposición a padecer enfermedad cardiovascular en la edad adulta. Bien es verdad, que por los valores obtenidos, el riesgo parece muy leve y que existe margen de actuación.

Como se ha mencionado, los participantes presentaban resistencia a la insulina en músculo liso de la vasculatura en un estadio temprano. Si no se trata a tiempo, ésta puede convertirse en una resistencia a la insulina más avanzada que puede llevar a prediabetes (100-125 mg/dl glucosa en sangre en ayunas) y culminar en diabetes tipo 2 con el paso del tiempo. De acuerdo con el trabajo de Magge et al. (2005), altas concentraciones de las HDL pequeñas y las LDL pequeñas, y bajas de HDL grandes también pueden aparecer en adolescentes obesos con prediabetes. En el grupo estudiado en el presente TFM, aparecen bajas concentraciones de HDL grandes, lo que podría indicar un riesgo de desarrollar prediabetes, aunque los sujetos no llegan a padecer esta patología, ya que incluso mejoran al final de la intervención. Todo esto indica fuertemente la necesidad de una actuación con dieta y ejercicio como medida más efectiva y con menor coste económico, tal y como se ha hecho en este estudio, consiguiendo la normalización de estos parámetros.

Los adolescentes obesos pueden llegar a convertirse en adultos obesos si no son tratados a tiempo. El 80% de los adultos obesos presenta enfermedades cardiovasculares mientras que el 20% restante presenta otras patologías, siendo la artritis una de las más prevalentes. Los datos obtenidos en los adolescentes obesos del presente estudio se pueden comparar con los de otros estudios realizados en adultos mayores de 50 años para conocer la evolución de las lipoproteínas. En el estudio de Oravec et al. (2011), los adultos con hipertensión y enfermedad de la arteria coronaria, presentaban altos niveles de LDL pequeñas y HDL pequeñas y bajos niveles de HDL grandes, que son indicadores de alto riesgo cardiovascular. Mientras que las HDL intermedias presentaban valores similares tanto en enfermos como en sanos. En una investigación similar llevada a cabo por Kelly et al. (2019), los adultos con dislipemia presentaban niveles bajos de HDL total y altos de triglicéridos (medidos por analítica convencional) y niveles altos de LDL pequeñas medidos por Lipoprint[®]. Estos resultados coincidirían con la triada aterogénica si presentasen valores altos de las HDL pequeñas. Como se ha mencionado antes, las LDL pequeñas son más aterogénicas porque interaccionan peor con el receptor B/E, al igual que las HDL pequeñas (Feingold y Grunfeld, 2000b). A pesar de todo, los marcadores mencionados son más predictivos que el colesterol total y LDL de la analítica convencional para los adultos con riesgo cardiovascular. Sin embargo, en los adolescentes obesos, los marcadores que avisan de riesgo cardiovascular en la edad adulta son tan sólo las subfracciones de las HDL, como se ha mencionado anteriormente.

Después de 4 meses de intervención, en los participantes las HDL grandes han aumentado siendo la HDL-1 la que lo ha hecho de forma significativa. Estas subfracciones se encuentran dentro de los parámetros óptimos siendo indicadores de bajo riesgo aterogénico. Las HDL totales también han aumentado significativamente. Sin embargo, aún seguían existiendo diferencias significativas con los controles en las HDL grandes, intermedias y totales pero esta diferencia no era tan grande como al inicio de la intervención. Esto coincide con los resultados obtenidos en el trabajo de Stoner et al. (2016) en adolescentes obesos, en el que se demuestra que con un entrenamiento de 3 meses ya se consiguen cambios en las HDL totales, aunque señala que si el entrenamiento hubiese durado más tiempo se hubiesen conseguido mejores valores en el resto de parámetros lipídicos. Un parámetro que no se consigue interpretar satisfactoriamente en este estudio son los altos niveles de VLDL que aparecen en los obesos, al igual que en los controles. No se han encontrado publicaciones que indiquen el valor de referencia en adolescentes y poder valorar correctamente este parámetro.

Por lo tanto, en el segmento de población estudiado sí que se puede revertir la situación disminuyendo los indicadores de riesgo aterogénico que aumentan la predisposición a padecer estas enfermedades en la edad adulta. Aún se pueden obtener más beneficios en la salud, ya que los participantes siguen realizando deporte y dieta de forma estricta en el domicilio, pero se desconocen estos datos.

El programa de dieta y ejercicio realizado en este trabajo pretende que los participantes adquieran hábitos de vida saludable. De esta forma, se pueden reducir las dislipemias previniendo el riesgo de padecer diabetes tipo 2, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares en la edad adulta. Gracias al sistema Lipoprint[®], se ha podido obtener el perfil completo de lipoproteínas para conocer los marcadores lipoproteicos que aumentan la predisposición a padecer estas enfermedades. Por lo tanto, es una mejor prueba de diagnóstico en este segmento de la población, que la analítica convencional. No obstante, el valor diagnóstico de Lipoprint[®] está muy bien establecido en pacientes adultos, ya que son varios los parámetros que se modifican cuando entran en riesgo cardiovascular. Por su parte, en adolescentes, es necesario realizar más investigaciones para verificar si los pocos parámetros que se modifican, son predictivos de un futuro problema cardiovascular y de esta forma poder establecer las medidas preventivas con suficiente antelación. Todo ello permitiría reducir el gasto sanitario ya que la población adulta con una patología cardiovascular declarada necesita tratamientos muy costosos para la sanidad pública.

6. CONCLUSIONES

En los adolescentes obesos se concluye que tras la mejora de los parámetros antropométricos adquirida en la intervención:

- 1 Las HDL grandes aumentan, siendo la HDL-1 y la fracción total las que lo hacen de forma significativa. Estos parámetros son indicativos de un menor riesgo de padecer enfermedad cardiovascular en la edad adulta.
- 2 En las HDL pequeñas y las LDL pequeñas no existen diferencias significativas, encontrándose al inicio dentro del rango saludable. En el resto de subfracciones y en los resultados de las analíticas convencionales no se encuentran datos concluyentes. Por lo tanto, no informan sobre la predisposición a sufrir enfermedades cardiovasculares en la edad adulta.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Arai, H. (2014). Oxidative modification of lipoproteins. *Sub-Cellular Biochemistry*, 77, 103-114.
- Chen, A. K., Roberts, C. K. and Barnard, R. J. (2006). Effect of a short-term diet and exercise intervention on metabolic syndrome in overweight children. *Metabolism*, 55(7), 871-878.
- Civeira, F., Baila, L., de Castro-Orós, I., Mateo-Gallego, R. y Cénarro, A. (2013). Novedades en el metabolismo lipídico. *Nefrología*, 4(4), 9-17.
- Eren, E., Yilmaz, N. and Aydin, O. (2012). High density lipoprotein and its dysfunction. *The Open Biochemistry Journal*, 6, 78-93.
- Errico, T. L., Chen, X., Martín Campos, J. M., Julve, J., Escolà-Gil, J. C. y Blanco-Vaca, F. (2013). Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 25(2), 98-103.
- Feingold, K. R. and Grunfeld, C. (2000a). Introduction to Lipids and Lipoproteins. In K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, K. Dungan, A. Grossman, J. M. Hershman, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, R. McLachlan, J. E. Morley, M. New, L. Perreault, J. Purnell, R. Rebar, F. Singer, D. L. Trence, A. Vinik and D. P. Wilson (Eds.), *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.
- Feingold, K. R. and Grunfeld, C. (2000b). Obesity and Dyslipidemia. In K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, K. Dungan, A. Grossman, J. M. Hershman, G. Kaltsas, C. Koch, P. Kopp, M. Korbonits, R. McLachlan, J. E. Morley, M. New, L. Perreault, J. Purnell, R. Rebar, F. Singer, D. L. Trence, A. Vinik and D. P. Wilson (Eds.), *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.
- Franssen, R., Monajemi, H., Stoes, E. S. and Kastelein, J. J. (2011). Obesity and dyslipidemia. *Medical Clinics of North America*, 95(5), 893-902.

- Goliasch, G., Oravec, S., Blessberger, H., Dostal, E., Hoke, M., Wojta, J., et al. (2012). Relative importance of different lipid risk factors for the development of myocardial infarction at a very young age (≤ 40 years of age). *European Journal of Clinical Investigation*, 42(6), 631-636.
- Griffin, B. A. (2013). Lipid metabolism. *Surgery (Oxford)*, 31(6), 267-272.
- Hussain, M. M. (2014). Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Current Opinion in Lipidology*, 25(3), 200-206.
- Kelly, M., Gírl, S. M., Boran, G., Maher, V. and Clarke, F. (2019). Evaluation of LDL and HDL subclasses in patients with dyslipidaemia. *Clinica Chimica Acta*, 493, S80-S81.
- Kotsis, V., Antza, C., Doundoulakis, G. and Stabouli, S. (2019). Obesity, hypertension, and dyslipidemia. *Obesity: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment*, , 227-241.
- Magge, S. N., Prasad, D., Koren, D., Gallagher, P. R., Mohler III, E. R., Stettler, N., et al. (2012). Prediabetic obese adolescents have a more atherogenic lipoprotein profile compared with normoglycemic obese peers. *The Journal of Pediatrics*, 161(5), 881-886.
- Maiolino, G., Rossitto, G., Caielli, P., Bisogni, V., Rossi, G. P. and Calo, L. A. (2013). The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: The myths and the facts. *Mediators of Inflammation*, 2013, 714653.
- Marson, E. C., Delevatti, R. S., Prado, A. K. G., Netto, N. and Kruehl, L. F. M. (2016). Effects of aerobic, resistance, and combined exercise training on insulin resistance markers in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Preventive Medicine*, 93, 211-218.
- McPherson, R. A. and Pincus, M. R. (2017). *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Mika, A. and Sledzinski, T. (2017). Alterations of specific lipid groups in serum of obese humans: A review. *Obesity Reviews*, 18(2), 247-272.

- Montero, D., Walther, G., Perez-Martin, A., Santamaria, C., Roche, E., Mercier, C., et al. (2014). Decreased microvascular myogenic response to insulin in severely obese adolescents. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 57(1), 23-32.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). (2002). Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) final report. *Circulation*, 106(25), 3143-3421.
- Nemet, D., Barkan, S., Epstein, Y., Friedland, O., Kowen, G. and Eliakim, A. (2005). Short- and long-term beneficial effects of a combined dietary-behavioral-physical activity intervention for the treatment of childhood obesity. *Pediatrics*, 115(4), e443-449.
- Oravec, S., Dostal, E., Dukát, A., Gavorník, P., Kucera, M. and Gruber, K. (2011). HDL subfractions analysis: A new laboratory diagnostic assay for patients with cardiovascular diseases and dyslipoproteinemia. *Neuroendocrinology Letters*, 32, 502-509.
- Pedro-Botet, J., Rodríguez-Padial, L., Brotons, C., Esteban-Salán, M., García-Lerín, A., Pintó, X., et al. (2018). Homogeneización de los valores del perfil lipídico. *Clínica e Investigación En Arteriosclerosis*, 30(1), 36-48.
- Quantimetrix. Lipoprint HDL subfractions test. Retrieved 20 April, from <https://quantimetrix.com/lipoprint/lipoprint-hdl-subfractions-test/>
- Quantimetrix. Lipoprint LDL subfractions kit. Retrieved 20 April, from https://quantimetrix.com/wp-content/uploads/LipoprintLDLTestKit_Espan%CC%83ol_REF-48-7002.pdf
- Quantimetrix. Lipoprint profile. Retrieved 20 April, from <https://quantimetrix.com/lipoprint/lipoprint-profile/>
- Ramasamy, I. (2014). Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 52(12), 1695-1727.
- Rye, K. and Barter, P. J. (2014). Regulation of high-density lipoprotein metabolism. *Circulation Research*, 114(1), 143-156.

- Stoner, L., Rowlands, D., Morrison, A., Credeur, D., Hamlin, M., Gaffney, K., et al. (2016). Efficacy of exercise intervention for weight loss in overweight and obese adolescents: Meta-analysis and implications. *Sports Medicine*, 46(11), 1737-1751.
- World Health Organization. (2010). Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud.
- World Health Organization. (2017). Enfermedades cardiovasculares. Recuperado el 3 Abril, de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- World Health Organization. (2018). Obesidad y sobrepeso. Recuperado el 3 Abril, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Xu, R., Li, S., Li, X., Zhang, Y., Guo, Y., Zhu, C., et al. (2015). High-density lipoprotein subfractions in relation with the severity of coronary artery disease: A gensini score assessment. *Journal of Clinical Lipidology*, 9(1), 26-34.
- Zannis, V. I., Fotakis, P., Koukos, G., Kardassis, D., Ehnholm, C., Jauhiainen, M., et al. (2015). HDL biogenesis, remodeling, and catabolism. *High density lipoproteins* (pp. 53-111) Springer, Cham.