

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA 3139



TESIS DOCTORAL

**Estudio de marcadores de inflamación en ayuno y
situación postprandial en la hipercolesterolemia
primaria.**

Ester Savall Núñez

Dirigida por: Prof. D. José Tomás Real Collado

Prof. D. Sergio Martínez Hervás

València, Noviembre 2016

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

DEPARTAMENT DE MEDICINA



Estudio de marcadores de inflamación en ayuno y situación postprandial en la hipercolesterolemia primaria.

Ester Savall Núñez

Licenciada en Medicina - Especialista en Endocrinología y Nutrición

Dirigida por:

Prof. D. José Tomás Real Collado

Profesor Titular de Medicina. Departament de Medicina. Universitat de València

Prof. D. Sergio Martínez Hervás

Profesor Asociado de Medicina. Departament de Medicina. Universitat de València

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



DEPARTAMENT DE MEDICINA

D. JOSÉ TOMÁS REAL COLLADO. Doctor en Medicina y Cirugía. Profesor titular de Universidad del Departament de Medicina de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València.

D. SERGIO MARTÍNEZ HERVÁS. Doctor en Medicina y Cirugía. Profesor asociado de Universidad del Departament de Medicina de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València.

Informan:

Que el trabajo titulado “Estudio de marcadores de inflamación en ayuno y situación postprandial en la hipercolesterolemia primaria” presentado por D^a Ester Savall Núñez para optar al grado de Doctor por la Universitat de València, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne los requisitos necesarios para su presentación y lectura.

Y para que conste la presente en València a ... dede 2017.

Fdo. D. José Tomás Real Collado

Fdo. D. Sergio Martínez Hervás

Agradecimientos

Al Doctor Real, director de esta tesis, por su brillantez, generosidad y sensatez.

Al Doctor Martínez-Hervás, director de esta tesis, por sus consejos, su paciencia, su apoyo y amistad. Porque sus palabras me llevaron a este Servicio.

A Geles, por su eterna disposición, su dedicación y su sonrisa.

A mis padres, mi ejemplo.

A mis abuelos, mi riqueza.

A Cris, mi luz.

A Thibault, mi fortaleza.

A Júlia, mi todo.

“Una tesis es más una bitácora de dudas sembradas por el camino que una autovía de respuestas a disposición del menesteroso de saber que ilusamente cree que con leerla ha pagado el peaje suficiente” (López Cano)

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	13
TABLAS Y FIGURAS	15
I. INTRODUCCIÓN	19
1. Arteriosclerosis y riesgo cardiovascular	21
2. Hipercolesterolemia primaria	23
3. Inflamación sistémica y arteriosclerosis	27
4. Eotaxina	36
5. Lipemia postprandial	38
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	45
III. SUJETOS Y MÉTODOS.....	49
1. Sujetos	51
2. Métodos	53
3. Diseño	54
4. Análisis estadístico	56
IV. RESULTADOS.....	59
V. DISCUSIÓN	79
1. Selección de pacientes y evaluación del test de sobrecarga oral grasa.	81
2. Lipemia postprandial y parámetros de inflamación	83
VI. CONCLUSIONES.....	93
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	97

ABREVIATURAS

AE: arteriosclerosis	HDL: lipoproteínas de alta densidad
Apo: apolipoproteína	HF: hipercolesterolemia familiar
ATPIII: Adult treatment panel III	HFC: hiperlipemia familiar combinada
CCL11: eotaxina	HTA: hipertensión arterial
CCR3: receptor de quimiocinas 3	IFN: interferón
c-HDL: colesterol HDL	IL: interleuquina
c-LDL: colesterol LDL	IL1R1: receptor de IL-1 tipo 1
cm: centímetros	IL1ra: antagonista del receptor de IL-1
CSF: factor estimulador de colonias	IMC: índice de masa corporal
CT: colesterol total	kg: kilogramos
CV: cardiovascular	LCT: triglicéridos de cadena larga
c-VLDL: colesterol VLDL	LDL: lipoproteínas de baja densidad
DHA: ácido docosahexaenoico (C22:6)	LDLR: receptor de LDL
DM: diabetes mellitus	LDLRAP1: proteína accesoria 1 del LDLR
ECV: enfermedad cardiovascular	LPL: lipoproteinlipasa
EGF: factor de crecimiento epidérmico	LPP: lipemia postprandial
EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico	m: metros
EPA: ácido eicosapentaenoico (C20:5)	mg: miligramos
g: gramos	MMP: metaloproteinasas de la matriz
GIMc: grosor íntima-medio carotídeo	MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

NF- κ B: nuclear factor κ B.

OMS: organización mundial de la salud

PA: presión arterial

PCRas: proteína C reactiva de alta sensibilidad

PMN: polimorfonucleares

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados

QM: quilomicrones

SOG: sobrecarga oral grasa

TG: triglicéridos

TGF: factor transformador de crecimiento

TNF α : factor de necrosis tisular α

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Causas genéticas de los fenotipos de HF.....	24
Figura 1: Citoquinas implicadas en la AE, su origen celular y su destino.	30
Figura 2: Efectos de las citoquinas sobre el desarrollo y progresión de la placa de AE.	31
Figura 3: Resumen de los principales marcadores implicados en los diferentes estadios y manifestaciones de la AE carotídea.	35
Figura 4: Inicio de AE por los remanentes de lipoproteínas.....	40
Figura 5: Influencia de enfermedades metabólicas y factores del estilo de vida en la LPP	42
Tabla 2: Composición Supracal.....	55
Tabla 3: Determinación de parámetros basales y postprandiales durante el estudio.....	56
Tabla 4: Características generales del grupo completo	61
Tabla 5: Datos bioquímicos basales del grupo completo.....	62
Tabla 6: Datos de parámetros de inflamación basales.....	63
Tabla 7: Parámetros lipídicos basales y a las 2,4,6 y 8 horas tras la SOG en el grupo control y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria	64
Figura 6. Comparación de los niveles de colesterol plasmático en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	65
Figura 7. Comparación de los niveles de c-HDL plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	65
Figura 8. Comparación de los niveles de c-LDL plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	66
Figura 9. Comparación de los niveles de TG plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	66

Tabla 8: Marcadores de inflamación basales y a las 2,4,6 y 8 horas tras SOG en el grupo control y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	67-68
Figura 10. Comparación de los niveles de IL-1 β plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	69
Figura 11. Comparación de los niveles de IL-2 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	69
Figura 12. Comparación de los niveles de eotaxina plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.	70
Figura 13. Comparación de los niveles de IL-8 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	70
Figura 14. Comparación de los niveles de EGF plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	71
Figura 15. Comparación de los niveles de IL-1 α plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	71
Figura 16. Comparación de los niveles de IL-5 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	72
Figura 17. Comparación de los niveles de IL-13 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	72
Figura 18. Incremento de la trigliceridemia con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG en los controles y en sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	73
Figura 19. Incremento de los niveles de IL-1 β con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.	74
Figura 20. Incremento de los niveles de IL-2 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.	75
Figura 21. Incremento de los niveles de eotaxina con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.	75
Figura 22. Incremento de los niveles de IL-8 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria. ..	76

Figura 23. Incremento de los niveles de EGF con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria. ..	76
Figura 24. Incremento de los niveles de IL-1 α con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria. ..	77
Figura 25. de los niveles de IL-5 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.....	77
Figura 26. . Incremento de los niveles de IL-13 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.	78
Figura 27: Aterogenicidad de las lipoproteínas ricas en triglicéridos	85

I. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Arteriosclerosis y riesgo cardiovascular

“La enfermedad cardiovascular (ECV) es la causa más importante de muerte en todo el mundo; sigue en aumento y se ha convertido en una auténtica pandemia que no respeta fronteras”. Esta declaración de la OMS en 2009, no muy alejada de la alerta declarada por su Comité Ejecutivo ya cuatro décadas antes (1969)(1), sigue aplicándose en la actualidad, poniendo de relieve la magnitud de este reto sin resolver.

La ECV (coronaria o cerebrovascular) representa la principal causa de mortalidad mundial y la principal causa de muerte prematura en Europa, tanto en hombres como en mujeres(1,2). Además, la ECV genera una elevada morbilidad (p.ej. insuficiencia cardíaca secundaria a isquemia coronaria o discapacidad neurológica tras ictus). Se estima que en las próximas décadas la pérdida total de años de vida ajustados por discapacidad aumentará de 85 millones en 1990 a aproximadamente 150 millones en 2020 y, por tanto, continuará siendo la causa somática más importante de pérdida de productividad (1). De hecho, las predicciones calculadas para 2030 se sitúan en 23,6 millones de muertes a nivel global por patologías relacionadas con la ECV y sus complicaciones(3).

La base patogénica de la ECV es la arteriosclerosis (AE), un trastorno crónico multifactorial, de desarrollo insidioso y que frecuentemente presentará síntomas cuando ya se encuentre en un estadio avanzado. La AE afecta a las arterias de mediano y gran calibre(4), donde la formación de la placa arteriosclerótica condicionará un menor diámetro de la luz vascular y por tanto una región de isquemia y eventual necrosis en el territorio dependiente de la misma.

Se han identificado diferentes factores de riesgo para el desarrollo de AE, tanto modificables como no modificables. Estos últimos incluyen la edad, el sexo y la predisposición genética (para dislipemia, hipertensión, diabetes o inflamación sistémica).(4) Sin embargo, sobre los primeros sí se puede actuar, habiendo demostrado beneficios en la prevención de la ECV el control de los mismos. Entre ellos se incluyen

la hipertensión, las alteraciones del metabolismo lipídico e hidrocarbonado, el tabaquismo, los hábitos alimentarios poco saludables como dietas ricas en grasas saturadas y el sedentarismo e inactividad física. Además, la suma de varios de ellos multiplica el riesgo de ECV de forma exponencial (5).

En España la prevalencia de individuos con al menos dos factores de riesgo es superior al 30%. (6) Sin embargo, la prevención de la enfermedad cardiovascular resulta efectiva. Más del 50% de la reducción de la mortalidad cardiovascular se relaciona con cambios adecuados del estilo de vida y el 40%, con la administración de tratamientos (1). Por esta razón, las estrategias preventivas irán dirigidas tanto a población general como, sobre todo, a grupos de alto riesgo.

De los diferentes factores de riesgo conocidos, los niveles plasmáticos de colesterol LDL (c-LDL) se han considerado de manera tradicional como el principal factor condicionante de la estabilidad de la placa de ateroma (7). Por este motivo, las opciones terapéuticas han ido dirigidas a disminuir los niveles de c-LDL. Sin embargo, muchos sujetos con ECV establecida presentan niveles de c-LDL en rango de normalidad. Este riesgo residual podría atribuirse por una parte a alteraciones en las fracciones de lipoproteínas (LDL pequeñas y densas, o contenido variable en colesterol y triglicéridos de las lipoproteínas)(7). Por ello, es fundamental profundizar en el conocimiento de nuevos factores de riesgo más allá de los tradicionales en la etiología de la AE, para así detectar de manera más precisa a los individuos en riesgo, y por tanto aumentar el éxito en la prevención cardiovascular. Sobre todo, tendría gran interés en aquellos individuos en los que los factores de riesgo clásicos infraestiman su verdadero riesgo cardiovascular, catalogado como bajo-intermedio atendiendo a los factores de riesgo tradicionales(8).

2. Hipercolesterolemia primaria

El fenotipo de hipercolesterolemia grave incluye a todos los sujetos con niveles de c-LDL superiores a 190 mg/dL, independientemente de la causa subyacente(9). En España se estima que hasta un 20% de los adultos de la población general presentan hipercolesterolemia, aunque las cifras pueden variar dependiendo de los criterios utilizados(10). Según series, las hiperlipemias primarias afectan entre un 5 y un 10% de la población general. Una proporción importante de toda esta población no está tratada, al igual que sucede con otras patologías de elevada prevalencia como la diabetes mellitus o la hipertensión arterial.

El término de “hipercolesterolemia familiar” (HF) se aplica a sujetos con una alteración monogénica en los genes que regulan los niveles de c-LDL, de herencia autosómica dominante. Se caracterizan por presentar niveles muy elevados de c-LDL, con cifras de TG normales, c-HDL disminuido y su riesgo de ECV precoz es de cinco a ocho veces mayor que el de la población general(11). Los pacientes con HF se clasifican en homocigotos (en caso de presentar dos mutaciones idénticas), heterocigotos compuestos (una mutación distinta en cada alelo) o heterocigotos (un único alelo mutado)(9).

La HF es el resultado de defectos a nivel de la captación hepática y la degradación del c-LDL a través de su receptor. De las mutaciones conocidas como causantes de la HF (ver tabla 1), más del 90% se localizan en el gen del receptor de LDL (LDLR), con un total de más de 1600 mutaciones descritas hasta el momento(9,12). En los pacientes homocigotos la vía del LDLR no es funcional o presenta una menor actividad (del 2-30%) lo que genera unos niveles de c-LDL entre 4 y 8 veces los niveles de normalidad (>500 mg/dL); mientras que en los pacientes heterocigotos la pérdida de actividad del receptor es de hasta el 50%, con niveles de c-LDL que duplican o triplican los valores medios(9). Menos frecuentemente, las mutaciones se localizan en el gen que codifica para la apolipoproteína B (componente mayoritario del c-LDL y ligando del LDLR) o en el gen del PCSK9, implicado en la degradación del LDLR(13,14).

I. Defectos moleculares en la vía del receptor de las LDL

- a. Receptor de LDL: mutaciones con pérdida de sentido, sin sentido o inserciones o deleciones que afectan a su función (>1600 mutaciones descritas hasta la fecha);
- b. ApoB: mutaciones que afectan a la capacidad del ligando (codón 3500) para reconocer el receptor de LDL
- c. PCSK9: mutaciones con ganancia de función que provocan una reducción de los receptores de LDL en la superficie celular
- d. Proteína accesoria 1 del receptor de LDL (LDLRAP1): mutaciones que provocan un cambio de localización del receptor de LDL en la membrana hepatocitaria (forma hereditaria recesiva muy infrecuente)

II. Hipercolesterolemia poligénica

III. Otras formas monogénicas, epigenéticas y no genéticas (todavía no descritas)

Tabla 1. Causas genéticas de los fenotipos de hipercolesterolemia familiar. Adaptada de: Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. *J Am Coll Cardiol.* 2014 ;63(19):1935–47(9).

La prevalencia de la HF en heterocigotos está alrededor de 1/500 habitantes en la mayoría de países europeos(15), siendo más de 12 millones los afectados a nivel mundial(11), aunque este dato podría estar infraestimado, lo que supondría un grupo de población de riesgo no identificada y por tanto, no tratada. De los pacientes con HF diagnosticada, se estima que menos de un 10% alcanza objetivos terapéuticos de c-LDL(9).

El diagnóstico clínico de HF se basa en 5 criterios mayores incluyendo antecedentes familiares o personales de ECV precoz, niveles elevados de c-LDL, xantomas tendinosos y arco corneal(9), descartando previamente causas secundarias de hipercolesterolemia (hipotiroidismo, síndrome nefrótico y/o enfermedad hepática). Alrededor de 2/3 de los pacientes se acuñan con el término de “posible HF” en base a criterios clínicos(16). De ellos, hasta en el 60% no se identifica ninguna de las 3 mutaciones descritas anteriormente (14), lo que indica que deben haber otros genes o factores epigenéticos que den lugar a este fenotipo.

Sin embargo, el fenotipo de hipercolesterolemia primaria comprende también otras entidades además de la HF. Una de estas es el defecto familiar en la apolipoproteína B-100 (ApoB-100), una alteración autosómica dominante del gen que codifica dicha apoproteína(17). Este defecto supone una alteración en la unión de la ApoB-100 al LDLR, y por tanto se dificulta el transporte intracelular de esta partícula lipoproteica. Se caracteriza por valores elevados de c-LDL y una expresión clínica equiparable a la de la HF(18), si bien en los casos debidos a mutaciones en la ApoB la concentración de c-LDL es discretamente menor que en los causados por alteraciones a nivel del LDLR. Esta diferencia puede explicarse porque un porcentaje de las LDL presentan la apolipoproteína E en superficie, que también puede servir de ligando para el receptor de LDL(19).

Dentro del conjunto de la hipercolesterolemia primaria, otra patología a tener en cuenta es la hiperlipemia familiar combinada (HFC), la forma más común de las dislipemias de origen genético(17). Su prevalencia se estima entre un 1-2% en la población general(20), lo que significa que entre 500000 y 900000 personas en España pueden presentar esta enfermedad (21). Es un trastorno oligogénico, de bases genéticas heterogéneas y de herencia autosómica dominante con elevada penetrancia(22). La prevalencia de HFC alcanza hasta el 20% en los sujetos con ECV prematura(23), alcanzando un 38% en los supervivientes a un infarto de miocardio antes de los 40 años(24). La HFC se asocia frecuentemente con otras alteraciones metabólicas, como hipertensión arterial, resistencia a insulina o diabetes mellitus, obesidad, esteatosis hepática y síndrome metabólico(21).

Los pacientes con HFC pueden presentar concentraciones de colesterol y triglicéridos variables, pudiendo alternar patrones de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dislipemia mixta o incluso concentraciones lipídicas normales. Esta versatilidad en el fenotipo lipídico se produce tanto en un mismo individuo a lo largo del tiempo como entre diferentes individuos con HFC (incluso siendo familiares de primer grado)(17). Sin embargo, a pesar de poder presentar niveles lipídicos dentro de la normalidad en algún momento, esto no implica la normalización del riesgo cardiovascular, ya que hasta en un 65% de los casos coexiste un diagnóstico de síndrome metabólico (en base a los criterios del ATP-III)(19).

Entre los criterios diagnósticos de HFC es imprescindible la ausencia de xantomas, si bien podrían presentar arco corneal y xantelasmas. Suelen observarse concentraciones elevadas de ApoB (>120 mg/dL) y disminuidas de c-HDL (<40 mg/dL)(25). El ascenso de c-LDL y/o TG suele ser moderado, pero pueden alcanzar niveles mucho mayores si se combinan con otras causas de dislipemia. Además, se ha visto que en muchos casos de HFC predominan las LDL pequeñas y densas, pobres en colesterol y con una tasa elevada de ApoB/colesterol. Estas LDL son, a su vez, un factor de riesgo independiente de ECV y constituyen una de las principales razones de la importante carga aterogénica de esta patología(26). Los criterios diagnósticos de HFC siguen siendo motivo de controversia debido a su heterogeneidad y a la falta de hallazgos genéticos, clínicos o bioquímicos específicos. Aunque se ha intentado establecer el valor de ApoB como criterio diagnóstico de HFC, su determinación no está estandarizada y además no siempre está disponible. Actualmente, se considera necesario el estudio de los antecedentes lipídicos y de ECV en los familiares así como descartar otras causas de hiperlipidemia(21). Frecuentemente la HFC puede solaparse con el síndrome metabólico, aunque la HFC se distinguirá de este por su carácter fundamentalmente hereditario, niveles de c-LDL y ApoB elevados, fenotipo variable y mayor riesgo de ECV(27).

Finalmente, una proporción de las hipercolesterolemias diagnosticadas clínicamente, con familiares de primer grado afectados, pero sin estigmas clínicos ni mutación identificada, podrían tener un origen poligénico(15). Se observan cifras de c-LDL superiores a 190 mg/dL, resultado de la interacción de múltiples genes con el ambiente(17). En este grupo de pacientes, el despistaje familiar sería menos efectivo, ya que afectaría a menos del 50% de los familiares esperados para una alteración monogénica.

Incluso en pacientes con HF con una mutación causal identificada, podría haber una contribución adicional poligénica que explicase niveles muy elevados de c-LDL(15). En base a estas observaciones, Talmud et al. proponen el diagnóstico clínico de “hipercolesterolemia poligénica” para todos aquellos pacientes con fenotipo de HF pero sin mutación definida. Este diagnóstico no afecta a los algoritmos terapéuticos, ya que el riesgo de ECV viene determinado por la exposición a lo largo de la vida a valores elevados de colesterol y no por el genotipo causante; pero sí influenciaría el despistaje familiar(15).

3. Inflamación sistémica y arteriosclerosis

Las primeras investigaciones acerca de las causas subyacentes en la AE se remontan a tres siglos atrás. En 1793, Edward Jenner describió el endurecimiento y la calcificación vascular(28). Poco después, en 1856, Rudolph Virchow sugirió que la AE se trataba de una condición inflamatoria. Sin embargo, durante más de cien años esta hipótesis fue olvidada. Hasta mitad de los años ochenta del siglo pasado no se reconoció la merecida importancia del sistema inmune y los procesos inflamatorios en el proceso de aterogénesis y progresión de la AE (2).

Desde un punto de vista fisiopatológico, cada estadio de la AE (desde la fase inicial, crecimiento hasta la complicación de la placa) es una respuesta inflamatoria a estímulos nocivos (como hiperlipemia, tabaco, hipertensión arterial, hiperglucemia...)(29). La inflamación de la pared vascular es un componente crítico de la AE y acarrea cambios patológicos como edema, dilatación de los vasa vasorum e infiltración y proliferación de células inmunes(30). Entre las diferentes estirpes celulares que se alteran en los pacientes con AE, las células mononucleares (incluyendo tanto linfocitos como monocitos) son las implicadas con mayor frecuencia(7).

La infiltración por leucocitos PMN es característica en la inflamación arterial crónica.(31) Modelos animales confirman que los PMN circulantes son reclutados en las lesiones ateroscleróticas, mientras que una depleción de PMN se asocia con una reducción en la formación de la placa(32). En este sentido, el recuento de PMN

circulantes se ha propuesto como un factor predictor independiente, tanto de mortalidad cardiovascular, como de mortalidad por todas las causas en pacientes con AE carotídea(33).

Los componentes básicos del proceso inflamatorio pueden resumirse en cuatro niveles funcionales(2):

1. Inductores: como la tensión tangencial endotelial/intravascular o factores bioquímicos, p. ej. LDL
2. Receptores: sobretodo del tipo “scavenger”, mediando la captación de las LDL modificadas por los macrófagos, que a su vez se transforman en células espumosas.
3. Transducción de la señal: donde se involucran diversos tipos de kinasas y factores de transcripción.
4. Efectores de la inflamación: incluyendo tanto resolución del proceso inflamatorio como daño tisular o activación de una respuesta inmune. Muchas citoquinas han sido propuestas como efectores importantes en la patogénesis.

Estos cuatro niveles a su vez son regulados por diversos amplificadores (como citoquinas y quimiocinas) que modulan cada paso y generan un sutil equilibrio.

Como se ha comentado previamente, la AE es el resultado de un proceso inflamatorio crónico de la pared arterial, en cuya patogénesis intervienen lipoproteínas modificadas, la formación de productos de peroxidación lipídica con acción proinflamatoria y la respuesta inmune del huésped(34).

La AE se inicia con la secreción de moléculas de adhesión y quimiotaxis leucocitarias en respuesta a diferentes estímulos, facilitando la unión de los monocitos a las células endoteliales y su migración al espacio subintimal(35). Posteriormente, estos monocitos se transformarán en macrófagos al cargarse de lipoproteínas, iniciando así la estría grasa. Si los estímulos nocivos se mantienen, se perpetuará la atracción y el acúmulo de macrófagos, células mastoides y linfocitos T activados, creciendo así la lesión aterosclerótica(35).

La importancia del sistema inmune en el desarrollo de la arteriosclerosis reside en que estructuras endógenas modificadas (en particular LDL oxidadas) con productos de peroxidación lipídica se comportan como neoantígenos que serán reconocidos tanto por el sistema inmune innato, tras la activación de células vasculares y monocitos/macrófagos, como por el sistema inmune adquirido, contra los potenciales antígenos presentados a los linfocitos T por las células presentadoras de antígenos, desencadenando, en ambos casos, una respuesta inflamatoria(36,37). Además, las células vasculares, endoteliales y musculares lisas participan en el desarrollo de la enfermedad mediante reclutamiento leucocitario y remodelado vascular, así como perpetuando un estado inflamatorio a través de la liberación de citoquinas y quimiocinas(37).

Las citoquinas son proteínas mediadoras de bajo peso molecular, producidas sobre todo por linfocitos y macrófagos (aunque también pueden secretarse en otros tejidos) que actúan en las inmediaciones de donde son liberadas, generalmente en órganos linfoides o tejidos inflamados (37). Están implicadas en numerosos procesos fisiológicos, regulando diversas funciones celulares (comunicación intercelular, activación de receptores específicos, proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento...) así como regulando la respuesta inflamatoria e inmune. Bajo la denominación de “citoquinas” se engloba un grupo muy diverso de más de cien factores conocidos en la actualidad, que a su vez se dividen en interleuquinas (IL), factores de necrosis tumoral (TNF), interferones (IFN), factores estimuladores de colonias (CSF), factores transformadores de crecimiento (TGF) y quimiocinas (citoquinas quimiotácticas).

La importancia de las citoquinas en la arteriosclerosis reside en que todas las células implicadas en el desarrollo de la placa de ateroma son capaces de producir y responder a citoquinas. Como puede verse en la figura 1, las citoquinas son mediadoras tanto de la inmunidad innata como adquirida. Tienen un papel dual en la AE ya que van a ser responsables de efectos tanto pro- como antiinflamatorios, interviniendo en cada estadio de la enfermedad(3). La respuesta de los linfocitos Th1 promueve el desarrollo y progresión de la enfermedad mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias,

agravando la AE(38). Las citoquinas antiinflamatorias y relacionadas con células T reguladoras, por el contrario, tienen actividad antiaterogénica. El balance entre unas y otras será decisivo en el desarrollo de la lesión aterosclerótica (39).

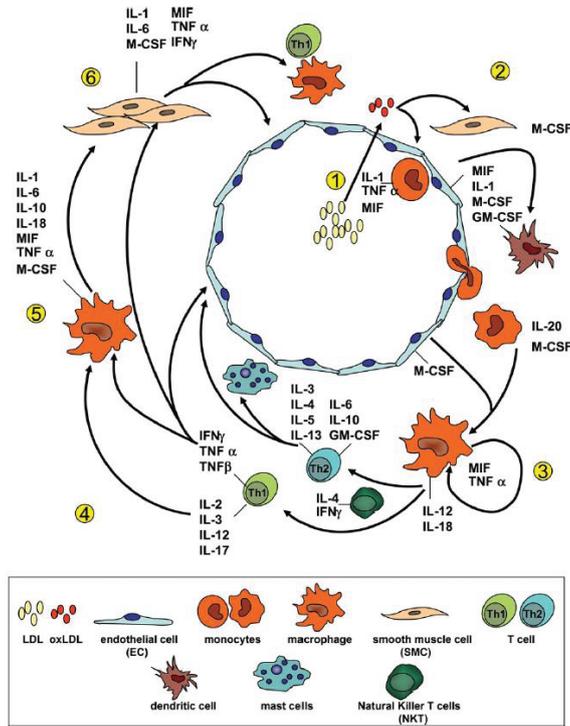


Figura 1: Citoquinas implicadas en la AE, su origen celular y su destino. Tomada de: Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res.* 2008;79(3):360–76.(39)

La producción de las citoquinas es autoinducible a través de señales autocrinas y paracrinas, lo que mantiene el estado inflamatorio(3). Además, en los estadios iniciales de la AE, las citoquinas pueden alterar la función endotelial (37). A su vez, estimulan el reclutamiento, adherencia y migración de linfocitos y monocitos en la pared vascular inflamada. Una vez ya alcanzada la íntima, los leucocitos están permanentemente activados por citoquinas generadas a nivel local, que a su vez aceleran la transformación de macrófagos en células espumosas. En un estadio más avanzado de la enfermedad las citoquinas proinflamatorias desestabilizan la placa de AE promoviendo la apoptosis

celular y la degradación de la matriz (37). En la figura 2 se resumen sus efectos sobre el desarrollo y progresión de la placa de AE.

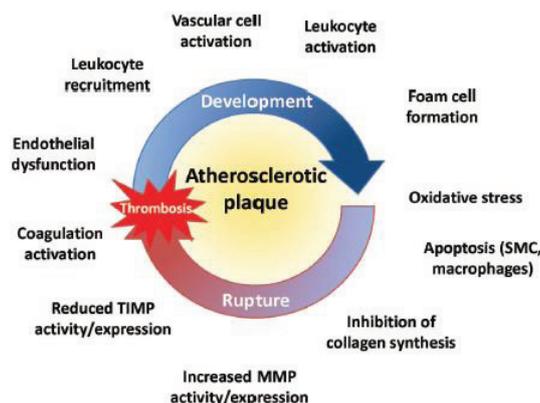


Figura 2: Efectos de las citoquinas sobre el desarrollo y progresión de la placa de AE. Tomada de: Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, Tedgui A. Recent Advances on the Role of Cytokines in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(5):969–79(37)

Dentro de las citoquinas, destacan por su papel en la AE las siguientes IL. La familia de las IL-1 engloba 11 proteínas que comparten secuencias homólogas y entre las que se incluyen la IL-1 α , IL-1 β y el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra) entre otras (37). Su secreción en la pared arterial procede fundamentalmente de monocitos y macrófagos, aunque también las células endoteliales y musculares lisas intervienen. Tanto la IL-1 α como la IL-1 β tienen efecto agonista a través del receptor de IL-1 (IL1R1). Este efecto será contrarrestado por el IL-1ra, un homólogo estructural que no conlleva respuesta celular al unirse al receptor, actuando como un inhibidor natural de IL-1 y regulando de manera estrecha este sistema. El receptor de IL-1 tipo II es un receptor de membrana celular que no conlleva transducción de señal(40).

Los efectos descritos hasta el momento se implican en el desarrollo temprano y la composición de la placa de AE. Sin embargo, la presencia de IL-1 α y de IL-1 β en la placa de AE conlleva la expresión de moléculas de adhesión endotelial y la activación de macrófagos y células vasculares, por lo que este grupo de IL ha sido catalogado como proaterogénicas(41). El IL1R1 se ubica sobre todo en células endoteliales e

inmunes. Su ligando, la IL-1 β , activa una cascada que implica otras citoquinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión(42). Los megacariocitos responderán a esta IL-1 β con un aumento de la producción plaquetar, y secretando también, a su vez, más IL-1 β que estimulará la megacariopoyesis(43,44). La IL-1 actúa también activando una cascada de factores procoagulantes, interrelacionando así coagulación e inflamación (45). Asimismo, la IL-1 contribuye al desarrollo del daño vascular, tanto estimulando la proliferación y diferenciación celular, como liberando enzimas que degradan la matriz(39). Aunque la IL-1 β ha sido la más estudiada hasta el momento, estudios recientes sugieren que la IL-1 α puede ser inducida de modo selectivo sin incrementar la secreción de IL-1 β , implicando a los ácidos grasos insaturados en este efecto(46).

Otra citoquina considerada como proinflamatoria es la IL-2, que es producida de manera principal por linfocitos Th1(39). Es una de las citoquinas más estudiadas (47). Es un factor de crecimiento eficaz para las células inmunes, incluyendo linfocitos T y natural killers. A nivel clínico, la IL-2 se ha usado como terapia antitumoral en carcinomas renales y melanomas así como antirretroviral en VIH(47). Estudios en ratones con depleción de IL-2 o de sus receptores han objetivado un desarrollo normal de los linfocitos T, pero con enfermedades linfoproliferativas(48). Estos resultados se han interpretado como una función esencial de la IL-2 en el control de autotolerancia. Así pues, dada esta función de inmunotolerancia, algunos autores sostienen que es todavía precipitado atribuir un efecto proaterogénico a la IL-2 sin datos sólidos de su función y características en la placa de ateroma(49).

La IL-5 es una citoquina pleiotrópica producida primordialmente por los linfocitos Th2 y las células mastoides. Constituye un factor de diferenciación y maduración eosinofílico(50). La IL-5 se ha descrito en lesiones ateroscleróticas en humanos y modelos animales, aunque su expresión es muy irregular. También los infiltrados eosinofílicos se describen de manera infrecuente en las lesiones arterioscleróticas (51). Sin embargo, la expresión de la IL-5 en las lesiones arterioscleróticas no es indispensable para el desarrollo de las funciones inmunoregulatoras que atañen a la aterogénesis (52).

Por otro lado, la respuesta Th2 asociada a una secreción destacada de IL-5 tiene un efecto ateroprotector.

La IL-5 también induce la proliferación y diferenciación de los linfocitos B, especialmente B1, que expresan de manera inherente el receptor para IL-5(50,52) y son la mayor fuente de producción de anticuerpos IgM. De este modo la IL-5 es un nexo entre la inmunidad innata y adquirida, con una función ateroprotectora(52). Los niveles de IL-5 se correlacionan por tanto con los títulos de anticuerpos contra LDL oxidadas (53). Asimismo, también se ha visto una relación inversamente proporcional entre los niveles de IL-5 y la presencia de arteriosclerosis subclínica a nivel carotídeo, independientemente del resto de factores de riesgo cardiovascular, aunque únicamente en el caso de calcularse en la bifurcación arterial (53). Este dato sugeriría que la función ateroprotectora de IL-5 es particularmente relevante en las regiones con alteración del flujo vascular, más susceptibles a la formación de lesiones(53). Sin embargo, los datos al respecto de esta relación entre IL-5 y GIMc no han sido confirmados en estudios posteriores, donde no se ha podido establecer ninguna asociación entre ambos(54).

La IL-8 es una citoquina quimiotáctica (o quimiocina), también conocida como CXCL8, producida por varias estirpes celulares en respuesta a IL-1, factor de necrosis tumoral o endotoxina(45). Se ha descrito que los niveles elevados de IL-8 (junto a otras quimiocinas) preceden a la ECV(55). Sin embargo, sigue en discusión si esta asociación es independiente de otros factores de riesgo cardiovascular ya conocidos, siendo el principal factor de confusión la edad(56). La IL-8 tiene una actividad proaterogénica establecida, y podría estar implicada, al menos en parte, en la adhesión de los PMN a la pared de pequeños vasos así como en la migración transendotelial(57). Tiene una función relevante sobre los PMN, abarcando quimiotaxis, degranulación y migración de los mismos(45). Las células espumosas derivadas de macrófagos tienen elevadas concentraciones de IL-8 (58,59). Además, se ha descrito que sujetos aparentemente sanos con niveles séricos de IL-8 en el cuartil más elevado presentan mayor riesgo de eventos coronarios comparados a los sujetos en el cuartil inferior (60).

La IL-13 se produce de manera exclusiva por células hematopoyéticas, incluyendo linfocitos Th2 activados y los recientemente descritos nuocitos(61). La IL-13 comparte receptor y vía de señalización con la IL-4, pero sus funciones en el proceso de AE son diferentes ya que a su vez pueden actuar sobre vías alternativas exclusivas. Estudios recientes han demostrado que la IL-13 modula las lesiones arterioscleróticas ya establecidas, induciendo una composición de la placa más estable, con mayor contenido de colágeno y limitando la concentración de macrófagos intralesionales (62,63). También se ha relacionado la IL-13 con el reclutamiento de eosinófilos y la hiperplasia de células caliciformes, determinantes para la producción mucosa(64).

En un estudio con sujetos con dolor torácico atípico y riesgo bajo-intermedio de enfermedad coronaria arterial, niveles plasmáticos elevados de IL-6 y disminuidos de IL-8 y IL-13 fueron predictivos para calcificación coronaria(65).

Los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-9 y IL-13 además de ayudar a los linfocitos B con la producción de anticuerpos. Su papel en el desarrollo de la AE es controvertido, ya que raramente se describen en las lesiones AE, pero sin embargo sí se promueve su inducción en un contexto de hiperlipidemia severa. Es probable que su función dependa del estadio y la localización de la lesión, así como del modelo experimental(37)

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es, como su nombre indica, un factor de crecimiento presente también en la placa de aterosclerosis que se ha relacionado con la vulnerabilidad de la misma. A través de su receptor (EGFR) induce la secreción y acción de metaloproteinasas de la matriz (MMP), MMP-1 y MMP-9, encargadas de disminuir el colágeno intersticial, lo que se traduce en mayor inestabilidad de la placa(66). A modo de resumen, la figura 3 presenta de manera esquemática los principales marcadores de inflamación implicados en la AE carotídea.

En las fases iniciales de la formación ateromatosa, las placas crecen en dirección contraria a los vasos, que van a intentar aumentar su diámetro. Cuando una placa cubre más del 40% de la capa íntima del vaso, se considera que el canal arterial está

ocupado(67). Las placas de AE tienen predilección por curvaturas pronunciadas, regiones estrechas y bifurcaciones donde el flujo sanguíneo es más turbulento(68). La progresión de la placa de AE crea un obstáculo restrictivo al flujo sanguíneo y un estado de hipoxia intraplaca, lo que a su vez contribuye a la inflamación local y estimula la neovascularización local. La presencia de neovasos en las lesiones ateroscleróticas no solo perpetúa el crecimiento de la placa sino que también contribuye a su vulnerabilidad(69).

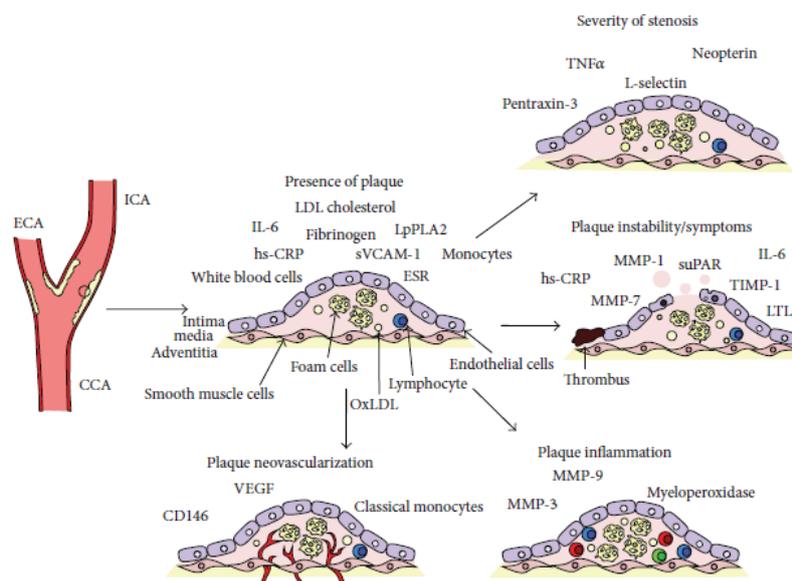


Figura 3: Resumen de los principales marcadores implicados en los diferentes estadios y manifestaciones de la AE carotídea. Tomada de: Ammirati E, Moroni F, Norata GD, Magnoni M, Camici PG. Markers of Inflammation Associated with Plaque Progression and Instability in Patients with Carotid Atherosclerosis. Mediators Inflamm 2015. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4415469/\(7\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4415469/(7))

En conclusión, la inflamación está presente en todo el proceso de la AE. Por este motivo, es necesario identificar marcadores inflamatorios específicos para la enfermedad vascular que puedan ser usados con alta sensibilidad y especificidad para detectar y cuantificar la severidad de la enfermedad aterosclerótica, especialmente en prevención primaria (70). Los marcadores propuestos hasta el momento han sido usados para la estratificación del riesgo en pacientes con AE, pero no se han aplicado a despistaje de pacientes asintomáticos ni para predicción de eventos cardiovasculares primarios. Esto podría explicarse por la falta de especificidad de origen vascular de algunos marcadores (como la proteína C reactiva y fibrinógeno). También podría deberse al hecho de que un único marcador podría no ser suficiente para establecer un diagnóstico preciso, dada la heterogeneidad de la población en riesgo, por lo que podrían proponerse algoritmos con combinaciones de marcadores(70). Por tanto, ya que las citoquinas juegan un papel clave en todas estas fases, podrían ser objetivos potenciales de estrategias terapéuticas y de prevención precoz.

4. Eotaxina

La eotaxina, también conocida como CCL11, es una citoquina producida por varios tipos celulares. Es un potente factor quimiotáctico y de activación de eosinófilos(71). Actualmente, los estudios que evalúan la relación de la eotaxina con la AE muestran resultados controvertidos(72,73), ya que si bien en las lesiones arterioscleróticas se identifican diversas estirpes celulares, los eosinófilos son una variedad infrecuente.

La eotaxina induce una respuesta Th1-like, ejerciendo su efecto a través del receptor de quimiocinas-3 (CCR3). Dado que este receptor se expresa en varios tipos celulares, todas ellas podrán responder a la eotaxina por vía autocrina y paracrina(74).

Está claramente demostrado que la eotaxina participa en la cascada inflamatoria, siendo evidente la relación entre concentraciones séricas de eotaxina y otras citoquinas (incluyendo TNF α , IL-6 e IL-1 β). Todas ellas actuarán sobre diferentes linajes celulares, que a su vez se encargarán de la secreción de mediadores inflamatorios, creando una compleja red de interacciones que conducen a un estado inflamatorio(75).

Haley et al. estudiaron la composición de la placa de ateroma y encontraron que los eosinófilos no solían estar presentes en ella. Sin embargo, sí vieron concentraciones elevadas de eotaxina, no presentes en sujetos no afectados. Se postuló por tanto que la eotaxina contribuiría al reclutamiento y activación de células inflamatorias en la placa de ateroma(72). De hecho, la eotaxina se expresaba de manera predominante en las células musculares lisas, especialmente en aquellas más alejadas de la luz vascular, por lo que únicamente la expresarían las células activadas(72). Cabe recordar que las células musculares lisas son el principal componente celular de la pared arterial, por lo que la regulación de su proliferación y respuesta a estímulos proinflamatorios son claves en la patogénesis de la AE. Estas células musculares poseen receptores funcionales para quimiocinas, y a través de su “activación” modifican su fenotipo predominantemente contráctil a otro secretor(76).

La eotaxina también se ha relacionado con otras estirpes celulares, como las células endoteliales. Estudios recientes han estudiado el efecto de la delección del gen de la tenascina en ratones ApoE^{-/-}, objetivando un aumento de eotaxina plasmática que se correlaciona con una mayor extensión de la AE en los genotipos estudiados(74). Esto sugiere la contribución de las células endoteliales en la secreción de eotaxina; siendo a su vez diana autocrina y activando así la expresión de otras moléculas de adhesión(74). Otros autores han observado una asociación entre los niveles de eotaxina y la enfermedad coronaria clínicamente significativa(77). Por el contrario, estudios posteriores no han encontrado ninguna asociación entre la eotaxina y la AE, como es el caso del Dallas Heart Study que incluyó mayor tamaño y variedad muestral(73).

Por otro lado, la administración en vivo de eotaxina induce un aumento del número de progenitores mieloides en la médula ósea, virando la diferenciación de células hematopoyéticas en la médula ósea hacia la línea mioide(78). Por ello, en la placa de ateroma, es posible que la función de la eotaxina vaya más allá del reclutamiento y activación de eosinófilos, pudiendo asimismo modular la función de los macrófagos y células mastoides (donde se expresa también su receptor)(72).

Esta discordancia de resultados refuerza la necesidad de profundizar los estudios para una mejor comprensión del rol de la eotaxina en la fisiopatología de la AE.

5. Lipemia postprandial

La lipemia postprandial (LPP) empezó a estudiarse en los años 50, siendo descrita por primera vez en 1979 por Zilversmit, quien ya señaló un vínculo entre LPP y AE(79). Actualmente se ha reconocido la influencia de la LPP como un factor predictor de riesgo de ECV(80) e incluso se ha descrito la ECV como un fenómeno postprandial(81).

La LPP hace referencia al aumento plasmático de lipoproteínas ricas en TG tras una ingesta. Se caracteriza por un incremento de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que se transforman en lipoproteínas de baja densidad (LDL) y se depositan en la pared arterial; un descenso del número y función de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la producción de LDL pequeñas y densas. Este perfil lipídico desfavorable incrementa el riesgo de ECV(82). La magnitud de la LPP estará determinada pues por el grado de secreción y aclaramiento de dichas lipoproteínas ricas en TG(83).

El término de “ayunas” se restringe al estado que se produce tras un mínimo de 8 horas desde la última ingesta y por tanto, de manera general, será únicamente tras el descanso nocturno(84). La LPP es una respuesta fisiológica tras ingestas con contenido graso superior a 30 g, con un ascenso paralelo dosis-dependiente en los niveles plasmáticos de TG hasta aproximadamente 80g de grasa(85). Dado que el contenido medio de una comida occidental comprende entre 20-40 g de grasa y se realizan 3-5 ingestas/día, la población occidental llega a presentar un estado de LPP durante 18 horas/día. Una única comida grasa provoca cambios en las características de las lipoproteínas ricas en TG, en su tamaño, número y composición(86).

La proporción y duración de estos cambios postprandiales es multifactorial y con una respuesta muy variable. Generalmente será más prolongada en varones, a mayor edad, dietas ricas en carbohidratos, fumadores, obesidad y sedentarismo(87); incluyendo la composición de ácidos grasos ingeridos(88).

En sujetos sanos, el pico de LPP suele alcanzarse entre la tercera y la cuarta hora tras la ingesta grasa, retornando al punto inicial entre la sexta y la octava hora(87). Si la ingesta es rica en ácidos grasos saturados, alcanza un pico más tardío que la ingesta de ácidos grasos insaturados, y al mismo tiempo, un retorno más lento a los niveles de TG

en ayunas. Esto sugiere la persistencia de lipoproteínas ricas en TG o sus remanentes en el periodo postprandial tardío, lo que se ha relacionado con progresión de la AE(89). Debido a su tamaño, la mayoría de estos remanentes no atraviesan de manera tan eficiente la barrera endotelial como las LDL. Sin embargo, dado que su contenido en colesterol es muy superior, pueden conducir a un proceso acelerado de AE y ECV(90).

Aunque la mayor parte de los TG incluidos en las lipoproteínas se localizan en el core, se piensa que algunos de estos TG están expuestos en la superficie. Las lipoproteínas ricas en TG tanto endógenas (VLDL) como exógenas (quilomicrones) comparten la misma vía metabólica, como la unión a la lipoprotein lipasa (LPL) del endotelio para la hidrólisis en ácidos grasos y glicerol. Los quilomicrones son retirados de la circulación más rápidamente que las VLDL, posiblemente debido al mayor tamaño de los primeros (y por tanto mayor contenido en TG por partícula), con lo que la interacción de la LPL con la lipoproteína ocurre a una menor ratio LPL/TG(82). En fase postprandial hay una competición a nivel de la LPL ya que su disponibilidad es limitada, lo que justifica un cúmulo de las lipoproteínas ricas en TG(81). La LPL se sintetiza en el músculo (cardíaco y esquelético) y en tejido adiposo y es regulada por la actividad física. En caso una disminución de la LPL procedente del músculo esquelético, o de inactividad forzada, se produce un viraje a oxidación de la glucosa, redistribución de los TG en corazón e hígado, aumento de la concentración tisular de lípidos e insulínresistencia(91). Todos aquellos factores que disminuyan la acción de la LPL conllevarán una hipertrigliceridemia(82).

En la práctica clínica, se usan los niveles de TG en ayunas como un reflejo de la LPP ya que existe una estrecha relación entre ambos(92). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que las concentraciones de TG en ayunas son más bajas y probablemente menos variables que su medida en situación postprandial. Además, los niveles de TG en ayunas infraestiman el riesgo cardiovascular al ajustarse por otros factores de riesgo, no existiendo esta limitación en la LPP(93). La disponibilidad de la LPL será todavía más restringida si existía hipertrigliceridemia en ayunas previamente(81). Se han identificado otros factores independientes determinantes de la LPP como el perímetro abdominal(94).

Como muestra la figura 4, la adhesión de monocitos (y no de PMN ni linfocitos) a un endotelio arterial morfológicamente normal es típico de AE inducida por cambios dietéticos en animales(95). Los mecanismos aterogénicos del perfil lipídico postprandial se dividen en efectos directos mediados por lipoproteínas y efectos indirectos inducidos por un estado inflamatorio(89). El incremento de TG postprandiales se ha relacionado con un aumento en la expresión de marcadores de activación leucocitaria(89,96), formación de radicales libres, disfunción endotelial y formación de células espumosas(97).

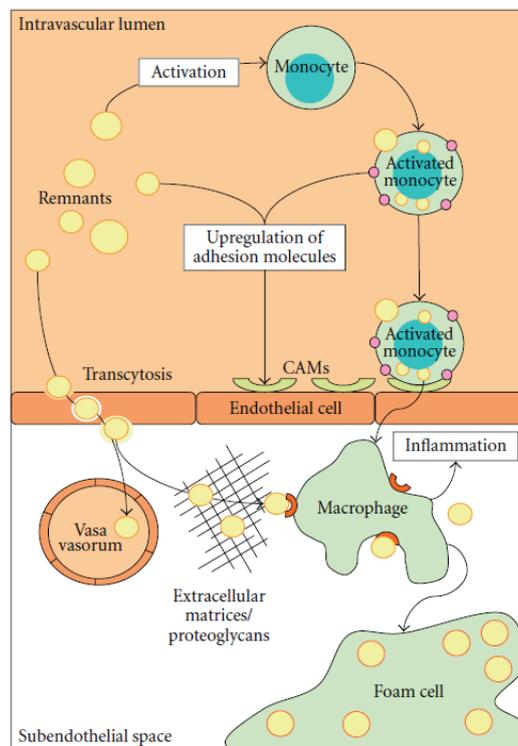


Figura 4: Inicio de AE por los remanentes de lipoproteínas: entrada de los remanentes al espacio endotelial por vías no específicas de transcitosis y captación por macrófagos; unión de monocitos a los remanentes intravasculares y activación de los monocitos con la consecuente expresión de moléculas de adhesión y migración monocitaria al subendotelio. Tomada de: Klop B, Proctor SD, Mamo JC, Botham KM, Castro Cabezas M. Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases. *Int J Vasc Med* 2012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3179890/>(86).

Estudios con grandes muestras poblacionales (p.ej. Women's Health Study y Copenhagen City Heart Study) han demostrado la relación entre TG postprandiales y riesgo de ECV. La LPP se considera un excelente marcador de riesgo de enfermedad arterial coronaria, enfermedad vascular periférica y enfermedad cerebrovascular(84,98). En este sentido, niveles de TG postprandiales de 5 mmol/L vs 1 mmol/L marcarían un riesgo aumentado entre 17 y 5 veces de infarto de miocardio; entre 5 y 3 veces de ictus isquémico; y entre 4 y 2 veces de muerte prematura en la población general(84,98).

Hay suficiente evidencia epidemiológica de una asociación entre contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y monoinsaturados (MUFA) en la dieta y protección cardiovascular, con una menor incidencia de AE. Sin embargo, los resultados son distintos según las series estudiadas, por lo que el efecto de los PUFA o MUFA sobre moléculas inflamatorias indicadoras de ECV sigue siendo no concluyente, sin poder hacer recomendaciones específicas de dosis ni duración de la suplementación a este respecto(99).

Como se aprecia en la figura 5, las frutas ricas en polifenoles, el aceite de oliva virgen, los carotenoides y el ejercicio físico son algunos de los factores que disminuyen la inflamación postprandial(96,100). Desde el punto de vista farmacológico, los fibratos y las estatinas , además de mejorar el perfil lipídico, también reducen dicho estado inflamatorio postprandial(96).

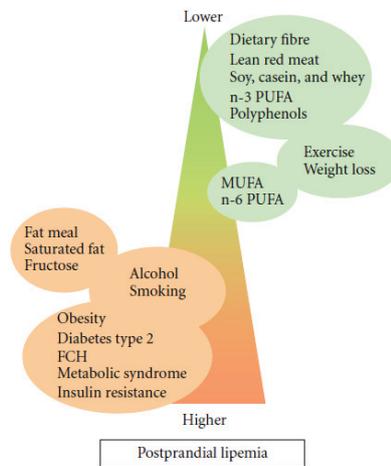


Figura 5: Influencia de enfermedades metabólicas y factores del estilo de vida en la LPP (los factores en color verde reducen la LPP mientras que los de color rojo son agravantes). Tomada de: Klop B, Proctor SD, Mamo JC, Botham KM, Castro Cabezas M. Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases. *Int J Vasc Med* 2012/(86)

5.1 Métodos

Nuestro grupo de trabajo ha realizado diversos estudios sobre LPP en sujetos con hiperlipemia familiar combinada, hipercolesterolemia familiar, obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (DM2). No obstante, los conocimientos actuales sobre LPP son todavía incompletos.

Los principales métodos disponibles en la actualidad para la evaluación de la LPP son dos: determinación de TG en sangre capilar y sobrecarga oral grasa (SOG).

Se han realizado desayunos y comidas de prueba en varias ocasiones con el objetivo de determinar LPP, grado de inflamación y oxidación tras la ingesta. A pesar de ello, diferencias metodológicas han impedido establecer conclusiones definitivas.

Los valores de TG sin ayunas pueden medirse en cualquier momento dentro de las 8 horas que siguen a cualquier ingesta; mientras que los niveles de TG postprandiales se evalúan en un punto temporal determinado dentro de este periodo de tiempo tras un test de tolerancia grasa estandarizado(98). La SOG presenta la ventaja respecto a estos métodos al evitar otros factores de confusión, permitiendo determinar marcadores plasmáticos y celulares relacionados con la LPP, en relación con la ingesta de grasa sin interferir otros componentes dietéticos.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La AE es el resultado de un proceso inflamatorio crónico de la pared arterial en cuya patogénesis intervienen numerosas células y mediadores histoquímicos que inician, perpetúan y complican la placa de ateroma.

La inflamación está presente en todo el proceso aterosclerótico, iniciándose con la secreción de moléculas de adhesión y quimiotaxis leucocitarias en respuesta a diferentes estímulos. Como ya se ha comentado en la introducción, todas las células implicadas en el desarrollo de la placa de ateroma tienen la propiedad de producir y responder a citoquinas. A su vez, estas proteínas regulan diferentes funciones celulares y pueden tener efectos antagónicos (pro o antiinflamatorios).

Por otra parte, la LPP podría constituir un factor de riesgo más para ECV. Sus mecanismos aterogénicos podrían ser a través de efectos directos mediados por lipoproteínas o bien induciendo la secreción de citoquinas proinflamatorias relacionadas con el desarrollo de la AE en fase postprandial. En este sentido, el tipo de grasa ingerida podría tener relación con la alteración de la función endotelial. La ingesta de ácidos grasos saturados se ha relacionado con la persistencia de lipoproteínas ricas en TG o sus remanentes en el periodo postprandial tardío, y por tanto con la progresión de la AE. En cambio, parece haber evidencias de que las grasas insaturadas serían un factor beneficioso, aunque los datos no son concluyentes por el momento.

Aunque ya se han realizado estudios para conocer la respuesta postprandial en pacientes con hipercolesterolemia, los conocimientos actuales en cuanto a marcadores de inflamación continúan siendo limitados.

En base a esto **nuestra hipótesis de trabajo** es:

En un modelo de alto riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia primaria, la SOG conllevará la activación de marcadores de inflamación implicados en el desarrollo

de la placa de ateroma. Estos cambios estarán en relación con la cantidad y tipo de grasa alimentaria ingerida, así como con la variación en los niveles de LPP.

Los **objetivos** de nuestro trabajo son:

Objetivo general:

Conocer y analizar los niveles de diferentes marcadores de inflamación, en ayunas y periodo postprandial, en controles y en un modelo de alto riesgo cardiovascular (sujetos con hipercolesterolemia primaria).

Objetivos específicos:

1. Conocer el grado de inflamación sistémica relacionada con el proceso aterosclerótico mediante la determinación de citoquinas (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-8, IL-13, eotaxina) y factores de crecimiento (EGF) en sujetos con hipercolesterolemia primaria y controles.
2. Evaluar el efecto de una SOG con grasas insaturadas en los parámetros de inflamación mencionados anteriormente.
3. Comparar los valores de los marcadores de inflamación estudiados en situación de ayunas y postprandial, en ambos grupos de sujetos.

IV. SUJETOS Y MÉTODOS

SUJETOS Y MÉTODOS

1. Sujetos

Se estudiaron sujetos con hipercolesterolemia primaria procedentes de las consultas externas de la Unidad de Lípidos del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de Valencia, seleccionados de manera oportunística. Los controles procedían de investigadores, personal del centro hospitalario y voluntarios. Se aparearon los sujetos de ambos grupos por edad, sexo, índice de masa corporal (IMC) y perímetro de cintura.

- Criterios de inclusión en el estudio para ambos grupos:
 - Edad comprendida entre 18 y 65 años
 - Ambos sexos
 - Genotipo E3/E3 de apoE
- Criterios diagnósticos de hipercolesterolemia primaria:
 - Colesterol total (CT) >260 mg/dL y/o c-LDL >160 mg/dL en ayunas (percentil 90 de nuestra población)
 - Triglicéridos < 240 mg/dL en ayunas (percentil 90 de nuestra población)
 - Antecedentes familiares de dislipemia IIA con patrón de herencia autosómica dominante.
- Criterios de sujetos control:
 - Colesterol total < 200 mg/dL en ayunas
 - Triglicéridos < 200 mg/dL.
 - Ausencia de antecedentes personales o familiares de dislipemia y/o cardiopatía isquémica precoz.
- Criterios de exclusión del estudio (ambos grupos):
 - Diabetes Mellitus (DM)
 - Obesidad con IMC > 35 kg/m²
 - Ingesta de alcohol > 30 g/día

- Fumador activo, independientemente del consumo, o abandono del hábito tabáquico inferior a 1 año
- Embarazo o lactancia actual o en los 3 meses previos al estudio
- Antecedentes personales de ECV (cardiopatía isquémica crónica, accidente cerebrovascular o vasculopatía periférica) o pacientes en prevención secundaria
- Hipertensión arterial (HTA)
- Insuficiencia cardíaca (NYHA >II)
- Hepatopatía: elevación de cualquier transaminasa 2 veces por encima de la normalidad, hepatopatía crónica, insuficiencia hepática o cirrosis hepática
- Insuficiencia renal (ClCr < 30 ml/min/m²) o diálisis
- Fármacos que interfieran con los parámetros de inflamación estudiados (hipolipemiantes, antiinflamatorios, antioxidantes...) o imposibilidad de retirarlos 6 semanas antes de la SOG
- TSH >10 mU/mL
- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- Asma
- Neoplasias
- Enfermedades autoinmunes
- Alergias conocidas
- Cualquier proceso infeccioso, inflamatorio o alérgico en el momento del estudio o en las 6 semanas precedentes
- Menopausia
- Práctica profesional de ejercicio físico
- Seguimiento de dietas hipocalóricas para la reducción de peso en el momento del estudio o durante las 6 semanas anteriores
- Fluctuaciones ponderales >10% en los 3 meses previos al estudio

2. Métodos

Los sujetos fueron seleccionados mediante el método oportunistico, en las consultas externas del servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro hospital. Tras comprobar su idoneidad en base a los criterios de inclusión y exclusión mencionados y la firma del consentimiento informado, se recogieron los siguientes parámetros en situación basal:

- Parámetros clínicos:
 - Edad y sexo
 - Registro del hábito tabáquico expresado como número de cigarrillos/día. En caso de ser exfumador se documentó el número de cigarrillos/día fumados previamente y el número de años que se mantuvo el hábito, con registro del año de abandono del consumo.
 - Consumo de alcohol, expresado en gramos/día.
 - Ejercicio físico registrado como minutos/semana de práctica habitual.
 - Antecedentes médico-quirúrgicos personales y familiares, incluyendo eventos cardiovasculares padecidos hasta la fecha.
 - Fármacos de uso habitual u ocasional durante el periodo del estudio.
 - Procesos inflamatorios, infecciosos o alérgicos durante el periodo de estudio.
 - Determinación de la presión arterial (PA) sistólica y diastólica, tras 10 minutos de reposo en decúbito supino, utilizando el valor medio de 3 mediciones separadas entre sí 5 minutos.

- Parámetros antropométricos:
 - Peso en kilogramos (kg)
 - Talla en metros (m)
 - Índice de masa corporal (IMC) en kg/m^2
 - Perímetro de la cintura en centímetros (cm): determinado en el punto medio entre el borde costal inferior y la cresta ilíaca con el sujeto en bipedestación.

- Parámetros bioquímicos:
 - Bioquímica y hemograma estándar
 - Perfil lipídico, mediante metodología estándar:
 - CT y TG por método colorimétrico tras 12 horas de ayuno.
 - c-HDL tras precipitación con polianiones.
 - c-LDL calculado mediante la fórmula de Friedewald (CT- (c-HDL+ c-VLDL))
 - Glucemia por método de glucosa oxidasa.

- Marcadores de inflamación:
 - IL-1 α
 - IL-1 β
 - IL-2
 - IL-5
 - IL-8
 - IL-13
 - Eotaxina
 - EGF

Fueron determinados en duplicado mediante kits multiplex para citoquinas humanas (Linco, Inc, USA) y un sistema Luminex LABScan_100 siguiendo las instrucciones del fabricante. El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos utilizando los reactivos del fabricante. Se generaron curvas estándar para cada uno de ellos (en duplicado) usando las concentraciones de referencia suministradas en el kit. Todos los pasos de incubación se realizaron a temperatura ambiente y en la oscuridad para proteger las muestras de la luz. La variabilidad intra e interensayo fue menor del 5%.

3. Diseño

Se trata de un estudio comparativo en sujetos con hipercolesterolemia primaria y controles sanos, en situación basal y postprandial. Es también un estudio de intervención para evaluar el efecto postprandial de grasa principalmente monoinsaturada en ambos grupos en los marcadores inflamatorios medidos.

A todos los sujetos seleccionados, tanto del grupo de pacientes como de controles, se les explicó el estudio y sus objetivos y se requirió la firma de un consentimiento informado previo. Tras aceptar participar en el estudio, en los sujetos en tratamiento con fármacos hipolipemiantes o con interferencia en los parámetros de inflamación estudiados, se retiró dicha medicación durante un periodo de 6 semanas. Posteriormente se recogieron los parámetros clínico-biológicos en situación basal detallados en el apartado anterior (ver “métodos”).

La extracción sanguínea basal se obtuvo tras 12 horas de ayuno en la Unidad de Pruebas Funcionales de nuestro servicio. Posteriormente, todos los sujetos se sometieron a una SOG estandarizada, mediante la ingesta de un módulo nutricional de triglicéridos de cadena larga (Supracal®). La composición de este preparado comercial se recoge en la tabla 2. La dosis administrada fue de 50 g de grasa /m² de superficie corporal. Se realizaron extracciones sanguíneas seriadas al inicio y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG para determinar las variables biológicas de interés, recogidas en la tabla 3. Durante todo el estudio los sujetos permanecieron en reposo, sentados o en decúbito supino, y únicamente se permitió la ingesta de agua.

Ingredientes: aceites vegetales (canola, girasol), agua desmineralizada, emulgente (ésteres de ácido cítrico y mono- y diglicéridos de ácidos grasos)

Información nutricional	Por 100 ml	Ácidos grasos	g por 100 g de ácidos grasos
Valor energético kJ (Kcal)	1850 (450)		
Grasas g de las cuales	50		
- Saturadas g	5,3	Láurico (C12)	<1
- Monoinsaturadas g	30,4	Mirístico (C14)	<1
- Poliinsaturadas g	14,3	Palmitico (C16)	10
%LCT	100	Estearico (C18)	3
Hidratos de carbono g	0,1	Oleico (C18:1)	58
De los cuales azúcares g	0	Linoleico (C18:2)	20
Proteínas g	0	α-linoleico (C18:3)	<1
Fibra alimentaria g	0	Araquidónico (C20)	1
Sal g	0,02	Eicosaenoico C20:1)	1
Minerales y elementos traza		Behénico (C22)	3
- Na mg (mmol)	7 (0,3)	Lignocérico (C24)	1
- Cl mg (mmol)	0,1 (0,0)		
Osmolaridad	0 mOsm/L		

Tabla 2. Composición Supracal®

	Basal	SOG - 2h	SOG - 4h	SOG - 6h	SOG - 8h
Datos clínicos	x				
Antropometría	x				
Bioquímica	x				
Hemograma	x	x	x	x	x
Glucosa	x				
Perfil lipídico	x	x	x	x	x
IL-1 α	x	x	x	x	x
IL-1 β	x	x	x	x	x
IL-2	x	x	x	x	x
IL-5	x	x	x	x	x
IL-8	x	x	x	x	x
IL-13	x	x	x	x	x
EGF	x	x	x	x	x
Eotaxina	x	x	x	x	x

Tabla 3. Determinación de parámetros basales y postprandiales durante el estudio.

4. Análisis estadístico

El tamaño muestral necesario para el estudio se calculó teniendo en cuenta un error alfa estándar del 5%, un error beta del 20% y para detectar diferencias clínicamente relevantes entre factores inflamatorios superiores al 20% entre sujetos hipercolesterolémicos y sanos. Con esto se estimó una n mínima de 10 sujetos control y

10 sujetos con hipercolesterolemia primaria, apareados por edad, sexo, IMC y perímetro de cintura. En el estudio se incluyeron finalmente 14 casos y 21 controles.

El estudio estadístico se realizó con el programa informatizado Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software (version 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA). Cada variable se expresa como media \pm desviación estándar (DE).

Dado el tamaño muestral, se utilizaron pruebas no paramétricas: U de Mann-Whitney en el caso de dos variables independientes y el test de Wilcoxon para variables apareadas. El grado de relación entre dos variables cuantitativas se determinó con el coeficiente de correlación de Spearman.

IV. RESULTADOS

RESULTADOS

1. Comparación de los parámetros analizados en ayunas en el grupo completo: controles frente a sujetos con hipercolesterolemia primaria

En las tablas y figuras que se exponen a continuación comparamos las características generales, antropométricas y bioquímicas, así como parámetros de inflamación del grupo de controles frente al de hipercolesterolemia primaria.

1.1. Características generales

En la tabla 4 se muestran las características generales del grupo completo. No se observan diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados.

	Controles (n=21)	Hipercolesterolemia primaria (n=14)
Edad (años)	38,9 ± 10,6	40,3 ± 7,4
Sexo Hombre/Mujer n (%)	10 (48) /11 (52)	8 (57) /6 (43)
IMC (kg/m ²)	24,5 ± 3,0	25,1 ± 3,2
Cintura (cm)	86,1 ± 9,5	87,9 ± 9,2
Presión arterial sistólica (mmHg)	112,6 ± 12,4	118,8 ± 13,0
Presión arterial diastólica (mmHg)	68,1 ± 7,0	73,0 ± 7,5

Los datos se expresan como media ± desviación estándar

Tabla 4. Características generales del grupo completo.

1.2. Datos bioquímicos en ayunas

En la tabla 5 se presentan los principales resultados bioquímicos en ayunas del grupo completo. Se observan valores significativamente mayores de CT, TG, c-LDL, apoB y plaquetas en el grupo de sujetos con hipercolesterolemia primaria.

	Controles (n=21)	Hipercolesterolemia primaria (n=14)
Glucosa (mg/dl)	91,7 ± 7,5	94,5 ± 9,7
CT (mg/dl)	177,7 ± 26,5	376,7 ± 85,8**
Triglicéridos (mg/dl)	67,9 ± 20,9	203,7 ± 142,8**
c-HDL (mg/dl)	59,7 ± 11,1	59,4 ± 10,4
c-LDL (mg/dl)	104,4 ± 22,3	280,4 ± 81,5**
Apo B (mg/dl)	79,2 ± 17,6	97,5 ± 13,1*
Leucocitos (/mm ³)	5642,9 ± 1292,9	5900,0 ± 1376,2
Neutrófilos (/mm ³)	3238,1 ± 967,2	3278,6 ± 1157,0
Linfocitos (/mm ³)	1757,1 ± 603,8	1935,7 ± 437,8
Plaquetas (x10 ³ / mm ³)	218,7 ± 43,9	249,6 ± 48,5*

*p<0,05; **p<0,01

Tabla 5. Datos bioquímicos basales del grupo completo.

1.3. Datos de parámetros de inflamación en ayunas

En la tabla 6 se presentan los resultados de IL, factores de adhesión y eotaxina en ayunas del grupo completo. Se observan valores significativamente mayores de IL-1 β , eotaxina e IL-8 en el grupo de sujetos con hipercolesterolemia primaria. El resto de parámetros, aunque también son superiores en este grupo, no alcanzaron diferencias significativas.

	Controles (n=21)	Hipercolesterolemia primaria (n=14)
IL-1 β	0,72 \pm 0,71	2,08 \pm 2,93*
IL-2	12,9 \pm 10,2	13,2 \pm 7,9
Eotaxina	56,6 \pm 18,6	84,3 \pm 33,6**
IL-8	3,3 \pm 2,3	11,6 \pm 14,6*
EGF	62,7 \pm 37,8	89,4 \pm 58,9
IL-1 α	41,6 \pm 82,6	233,2 \pm 571,2
IL-5	3,7 \pm 6,0	5,0 \pm 4,7
IL-13	38,0 \pm 67,5	96,9 \pm 152,7

*p<0,05; **p<0,01

Tabla 6. Datos de parámetros de inflamación basales

2. Comparación de los parámetros analizados en el grupo completo a nivel postprandial: controles frente a los sujetos con hipercolesterolemia primaria

En las tablas y figuras que se exponen a continuación se comparan los parámetros del metabolismo lipídico y parámetros de inflamación a nivel basal y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG del grupo de controles frente al de sujetos con hipercolesterolemia primaria.

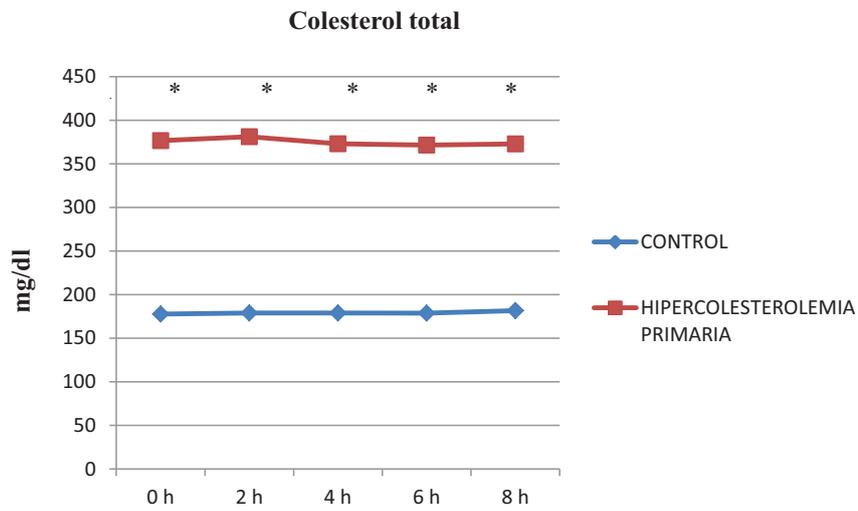
2.1. Efecto de la SOG sobre los parámetros del metabolismo lipídico

En la tabla 7 y en las figuras 6 a 9 quedan reflejados los valores de lípidos del grupo completo antes y después de la SOG en ambos grupos. Los niveles de CT, c-LDL y TG se mantuvieron superiores en los sujetos con hipercolesterolemia primaria frente a los controles de forma significativa en todos los puntos de la SOG. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en ningún punto de la sobrecarga en los valores de c-HDL.

Tiempo (horas)		0	2	4	6	8
CT (mg/dl)	Controles (n=21)	177,7 ± 26,5	179,0 ± 28,9	178,9 ± 24,6	178,8 ± 27,7	181,7 ± 25,4
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	376,7 ± 85,8*	381,1 ± 83,9*	371,5 ± 81,7*	371,5 ± 81,7*	372,8 ± 83,9*
c-HDL (mg/dl)	Controles (n=21)	59,7 ± 11,1	58,0 ± 10,6	57,9 ± 11,3	57,8 ± 11,2	59,8 ± 11,4
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	59,4 ± 10,4	59,0 ± 9,6	57,3 ± 9,6	57,6 ± 9,5	58,5 ± 10,3
c-LDL (mg/dl)	Controles (n=21)	104,4 ± 22,3	101,2 ± 24,2	96,3 ± 20,6	101,4 ± 22,1	108,3 ± 22,9
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	280,4 ± 81,5*	272,8 ± 76,8*	269,0 ± 79,9*	272,9 ± 77,9*	279,9 ± 78,4*
Triglicéridos (mg/dl)	Controles (n=21)	67,9 ± 20,9	99,0 ± 34,4	123,9 ± 63,7	97,8 ± 65,2	68,4 ± 25,3
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	203,7 ± 142,8*	269,0 ± 188,8*	264,4 ± 168,3*	211,6 ± 157,9*	178,4 ± 145,3*

*p<0,01: comparado con el grupo control en cada punto de la sobrecarga

Tabla 7. Parámetros lipídicos basales y a las 2,4,6 y 8 horas tras la SOG en el grupo control y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,01

Figura 6. Comparación de los niveles de colesterol plasmático en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

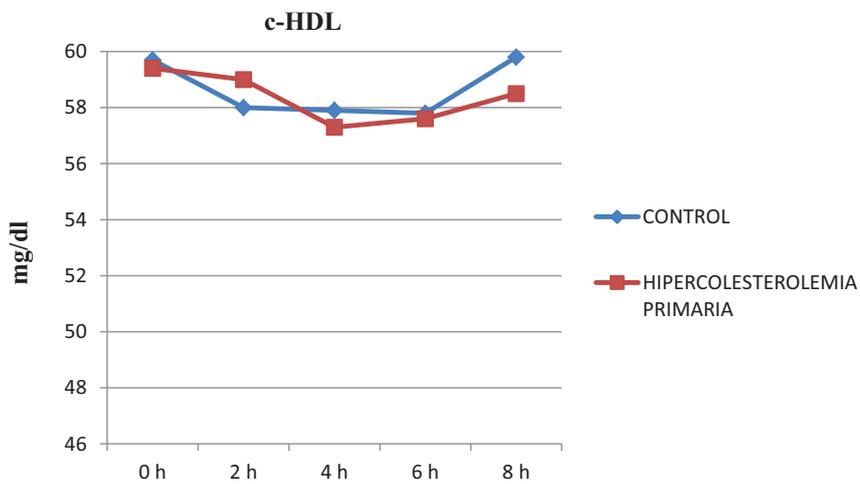
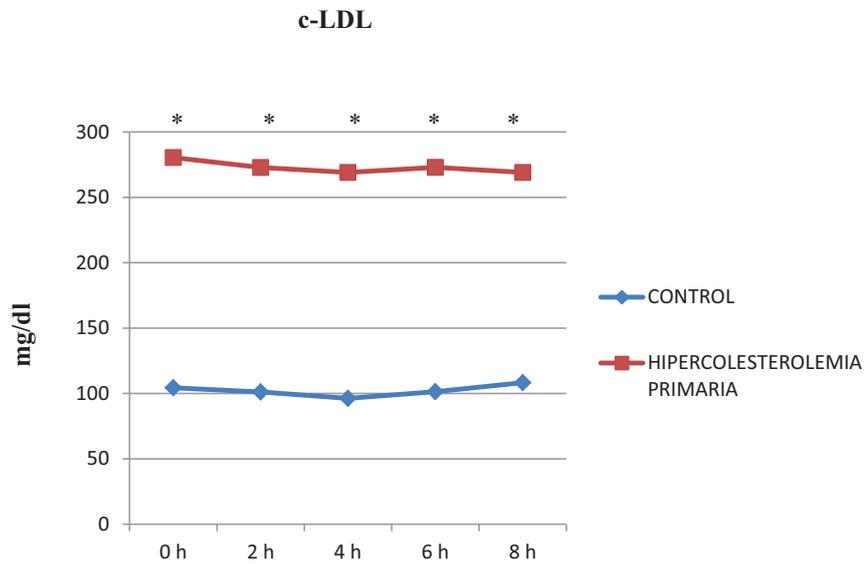
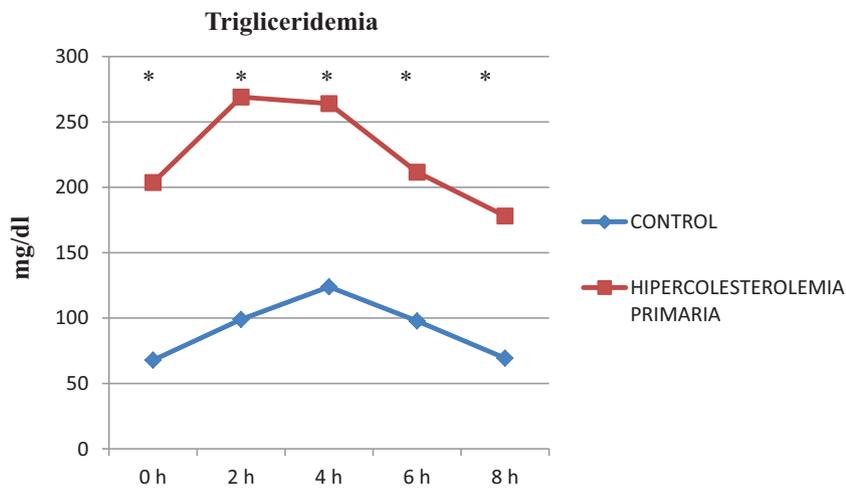


Figura 7. Comparación de los niveles de c-HDL plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,01

Figura 8. Comparación de los niveles de c-LDL plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,05

Figura 9. Comparación de los niveles de TG plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

2.2. Efecto de la SOG sobre los parámetros de inflamación

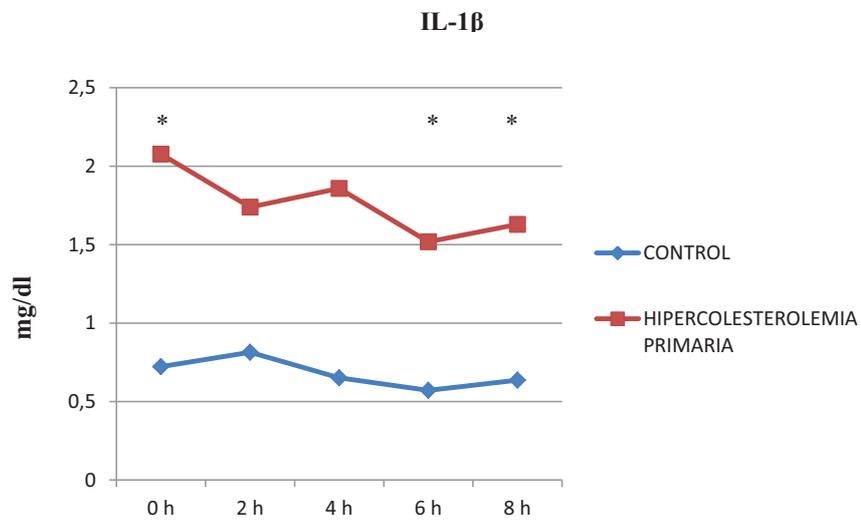
En la tabla 8 y en las figuras 10 a 17 se muestran los parámetros de inflamación en todos los puntos de la SOG en el grupo control comparado con respecto al observado en los pacientes con hipercolesterolemia primaria. En los sujetos con hipercolesterolemia primaria se observa una tendencia al descenso progresivo de los niveles de los marcadores de inflamación tras la SOG. Por el contrario, en los sujetos controles se observa una tendencia a la estabilidad, excepto en el caso de eotaxina, que aumenta.

Tiempo (horas)		0	2	4	6	8
IL-1β	Controles	0,72 \pm	0,81 \pm	0,65 \pm	0,57 \pm	0,64 \pm
	(n=21)	0,71	0,56	0,52	0,52	0,54
Hipercolesterolemia primaria		2,08 \pm	1,74 \pm	1,86 \pm	1,52 \pm	1,63 \pm
	(n=14)	2,93*	2,48	3,03	1,83*	1,9*
IL-2	Controles	12,9 \pm	13,8 \pm	11,3 \pm	9,9 \pm 5,7	11,9 \pm
	(n=21)	10,2	7,5	8,0		8,9
Hipercolesterolemia primaria		13,2 \pm	10,5 \pm	11,4 \pm	8,2 \pm 6,1	10,7 \pm
	(n=14)	7,9	8,5	10,1		6,8
Eotaxina	Controles	56,6 \pm	60,9 \pm	60,7 \pm	62,4 \pm	62,0 \pm
	(n=21)	18,6	26,1	25,9	23,3	16,6
Hipercolesterolemia primaria		84,3 \pm	72,2 \pm	74,6 \pm	73,9 \pm	70,1 \pm
	(n=14)	33,6**	27,9	35,3	32,4	24,1

IL-8	Controles (n=21)	3,3 ± 2,3	3,4 ± 2,3	3,2 ± 2,4	3,3 ± 2,5	3,1 ± 2,0
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	11,6 ± 14,6*	13,1 ± 13,7**	11,9 ± 15,5*	10,9 ± 14,8*	10,3 ± 13,7*
EGF	Controles (n=21)	62,7 ± 37,8	67,5 ± 40,2	68,5 ± 44,4	61,0 ± 43,5	73,1 ± 52,3
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	89,4 ± 58,9	79,1 ± 63,7	66,9 ± 52,6	56,5 ± 37,5	64,5 ± 39,8
IL-1α	Controles (n=21)	41,6 ± 82,6	29,6 ± 66,6	38,2 ± 66,6	33,2 ± 72,2	36,3 ± 76,1
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	233,2 ± 571,2	279,1 ± 630,4	304,7 ± 654,2	296,9 ± 656,5	270,7 ± 621,1
IL-5	Controles (n=21)	3,7 ± 6,0	4,1 ± 5,5	3,9 ± 5,6	3,6 ± 5,6	3,6 ± 4,8
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	5,0 ± 4,7	4,6 ± 4,8	4,2 ± 4,6	3,5 ± 3,5	3,6 ± 3,3
IL-13	Controles (n=21)	38,0 ± 67,5	34,5 ± 64,9	36,7 ± 64,5	35,8 ± 66,8	37,5 ± 65,3
	Hipercolesterolemia primaria (n=14)	96,9 ± 152,7	97,9 ± 163,5	112,8 ± 190,4	63,0 ± 101,5	74,5 ± 129,8

*p<0,05; **p<0,01: comparado con el grupo control en cada punto de la sobrecarga

Tabla 8. Marcadores de inflamación basales y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG, en el grupo control y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,05

Figura 10. Comparación de los niveles de IL-1 β plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

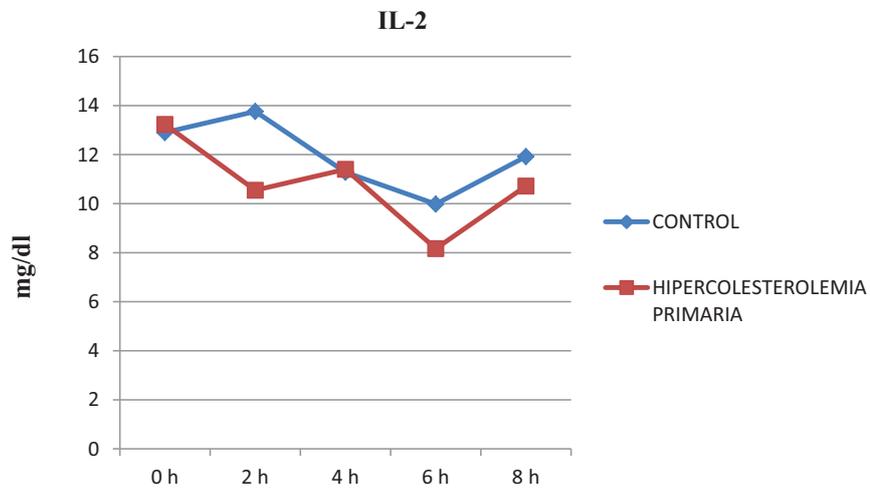
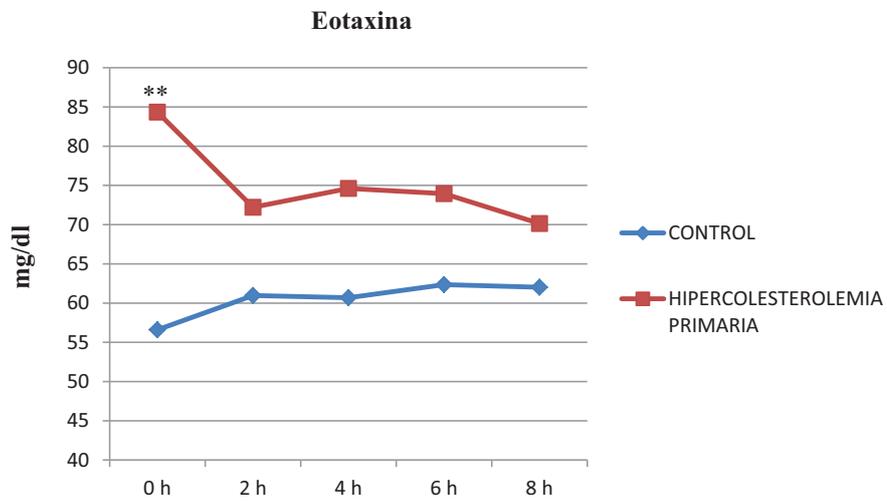
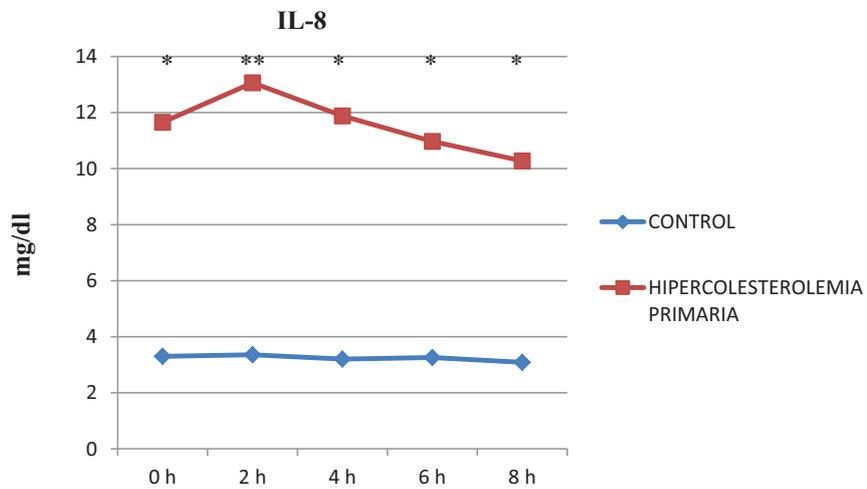


Figura 11. Comparación de los niveles de IL-2 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.



**p<0,01

Figura 12. Comparación de los niveles de eotaxina plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,05, ** p<0,01

Figura 13. Comparación de los niveles de IL-8 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

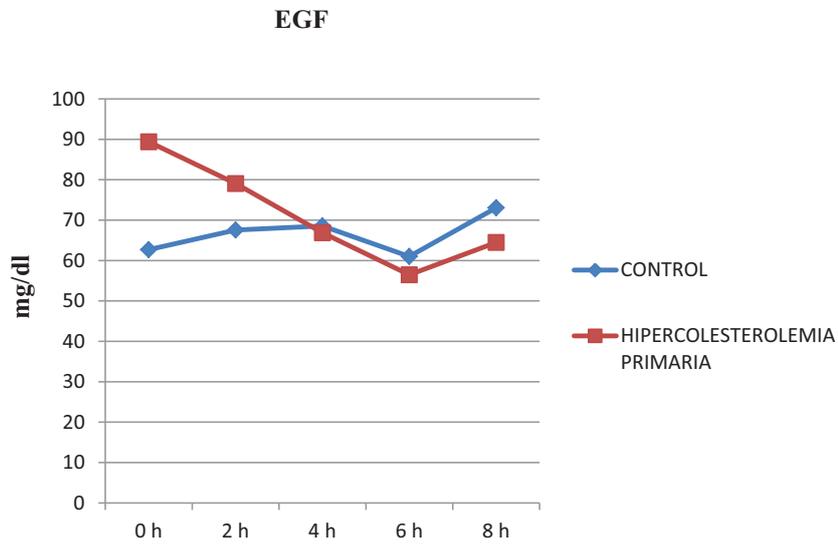


Figura 14. Comparación de los niveles de EGF plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

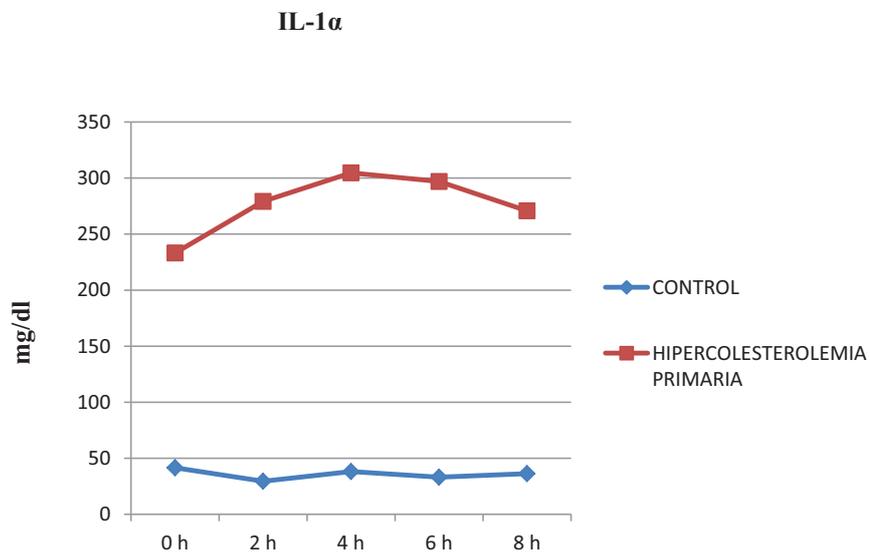


Figura 15. Comparación de los niveles de IL-1 α plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

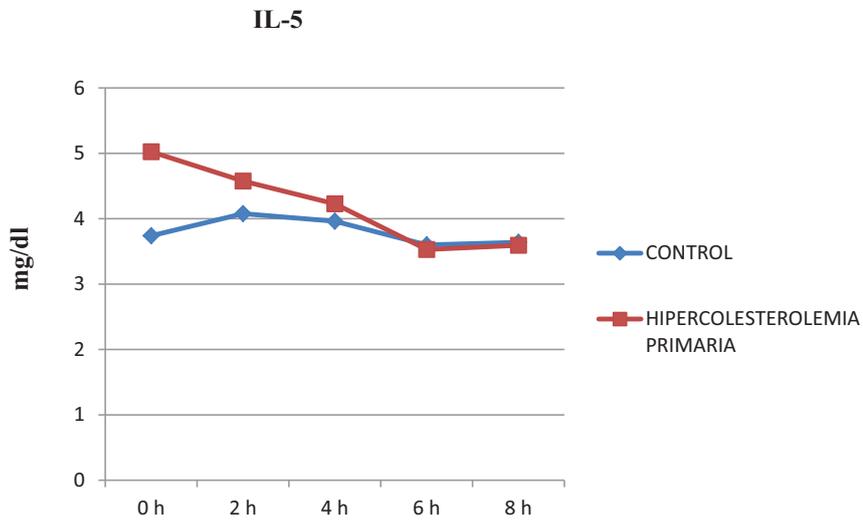


Figura 16. Comparación de los niveles de IL-5 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

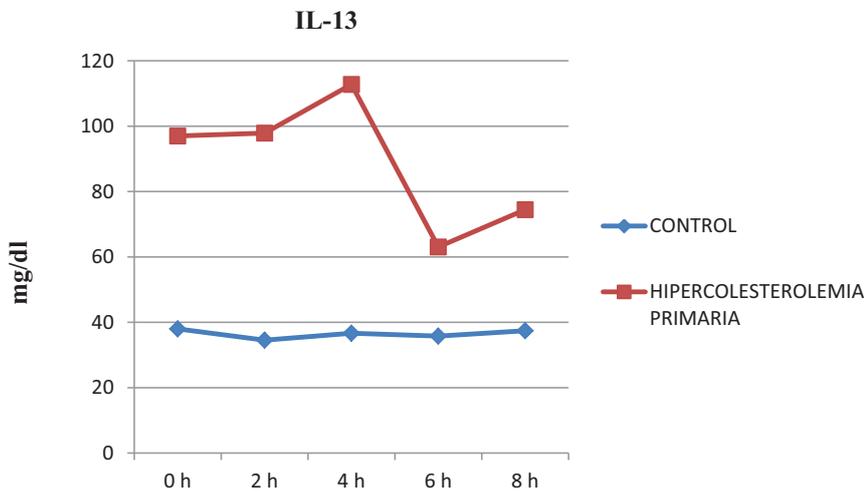


Figura 17. Comparación de los niveles de IL-13 plasmáticos en cada punto de la SOG entre controles y sujetos con hipercolesterolemia primaria.

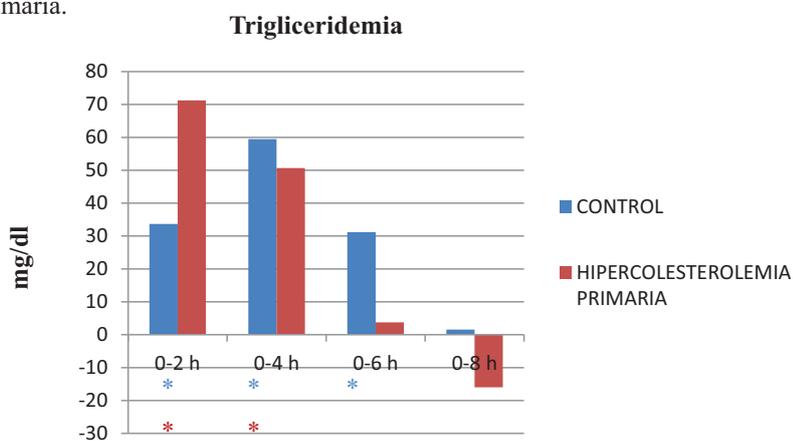
3. Comparación del incremento de los parámetros analizados en el grupo completo a nivel postprandial: controles frente a los sujetos con hipercolesterolemia primaria

En las tablas y figuras que se exponen a continuación se muestra el incremento de los diferentes parámetros analizados con respecto al valor basal, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

3.1. Comparación del incremento de los parámetros lipídicos en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor basal

En la figura 18 se muestra el incremento de los triglicéridos plasmáticos en cada punto de la SOG con respecto al valor basal en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

Se observa un incremento máximo a las 2 horas, en el caso de los pacientes con hipercolesterolemia primaria, y a las 4 horas en el caso de los sujetos control, con reducción progresiva, hasta alcanzar valores similares a los basales, o incluso ligeramente por debajo, como es el caso de los pacientes con hipercolesterolemia primaria. Las diferencias fueron significativas a las 2, 4 y 6 horas en el caso de los sujetos control, y a las 2 y 4 horas en el caso de los pacientes con hipercolesterolemia primaria.



*p<0,05 en grupo control *p<0,05 en sujetos con hipercolesterolemia primaria

Figura 18. Incremento de la trigliceridemia con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG en los controles y en sujetos con hipercolesterolemia primaria.

3.2. Comparación del incremento de los parámetros de inflamación en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor basal

En las figuras 19 a 26 se muestra el incremento de los parámetros de inflamación en cada punto de la SOG con respecto al valor basal en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

Se observa un decremento en todos los parámetros de inflamación en los sujetos con hipercolesterolemia primaria, así como en la mayoría en el caso de los sujetos control, excepto en el caso de la eotaxina, que aumenta en el caso de estos últimos.

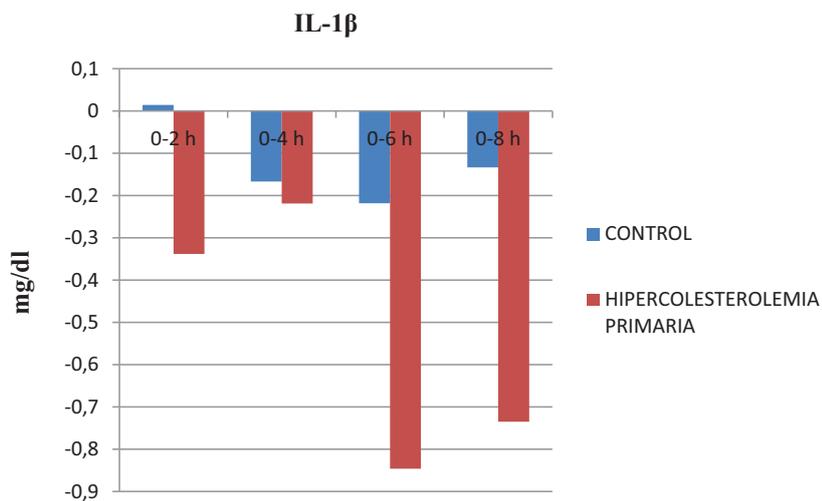


Figura 19. Incremento de los niveles de IL-1 β con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

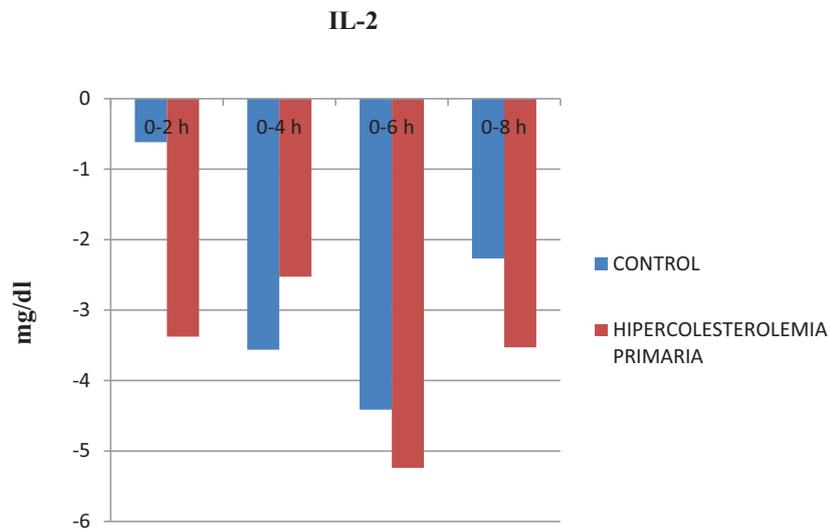
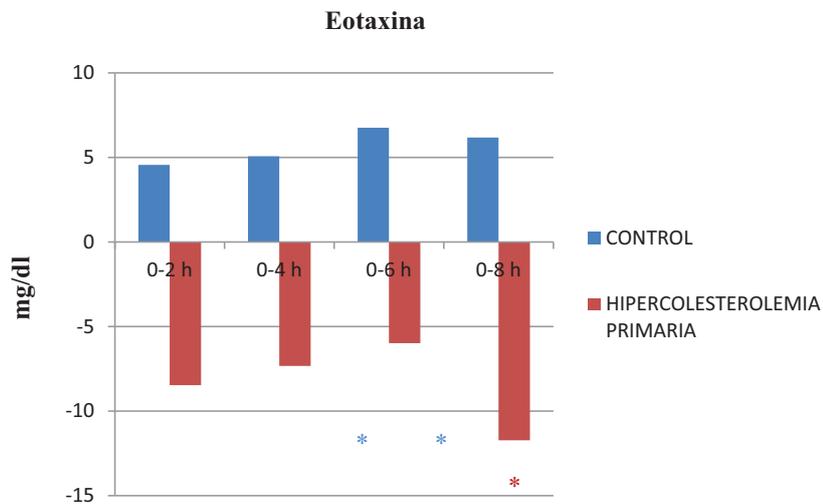


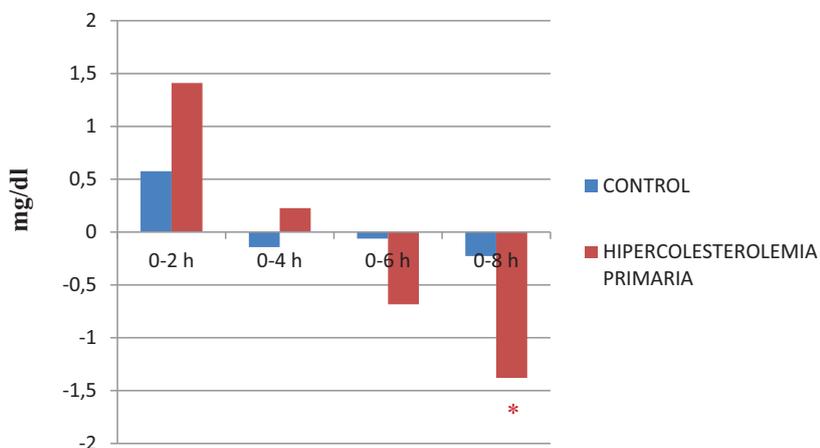
Figura 20. Incremento de los niveles de IL-2 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.



* p<0,05 en grupo control * p<0,05 en sujetos con hipercolesterolemia primaria

Figura 21. Incremento de los niveles de eotaxina con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

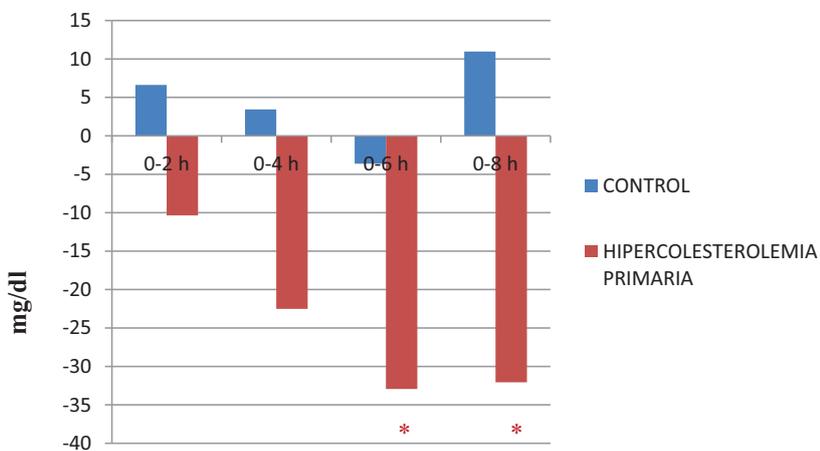
IL-8



* $p < 0,05$ en sujetos con hipercolesterolemia primaria

Figura 22. Incremento de los niveles de IL-8 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

EGF



* $p < 0,05$ en sujetos con hipercolesterolemia primaria

Figura 23. Incremento de los niveles de EGF con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

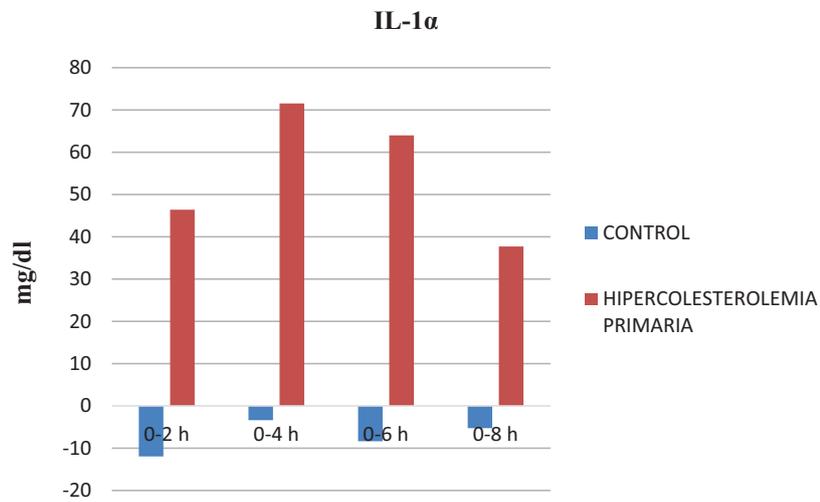


Figura 24. Incremento de los niveles de IL-1 α con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con Hipercolesterolemia primaria .

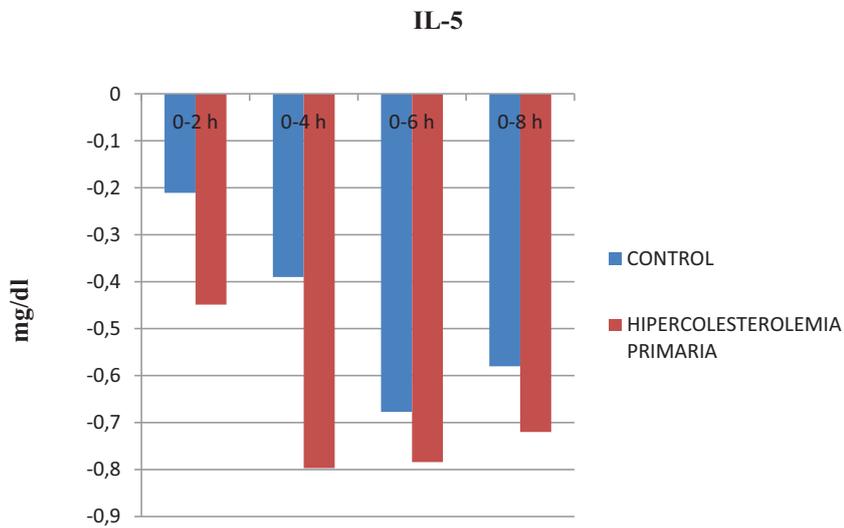


Figura 25. de los niveles de IL-5 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

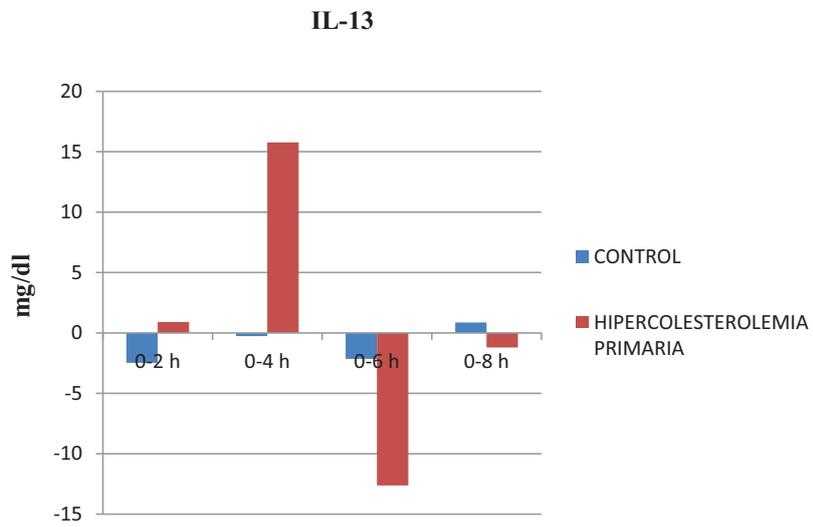


Figura 26. Incremento de los niveles de IL-13 con respecto al valor basal a las 2,4,6 y 8 horas de la SOG, en los controles y en los sujetos con hipercolesterolemia primaria.

V. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

1. Selección de pacientes y evaluación del test de sobrecarga oral grasa.

La SOG es un método útil tanto para el estudio de la LPP como para aquellos parámetros que podrían modificarse tras la administración de una comida de prueba o de un preparado estandarizado, como ha sido este caso. Sin embargo, múltiples factores (genéticos, ambientales,...) conducen a la variabilidad existente en la respuesta postprandial(88) Por ello era necesaria una población bien caracterizada, así como un preparado estandarizado a una dosis también estandarizada.

El objetivo era evaluar la influencia que ejerce la hipercolesterolemia primaria, como modelo de alto riesgo cardiovascular, sobre la respuesta postprandial de diferentes moléculas inflamatorias. Por ello, se seleccionó a los pacientes en función de la presencia o ausencia de hipercolesterolemia primaria. Por tanto, los resultados que observamos en situación de ayuno son acordes a los criterios de inclusión (valores plasmáticos de lípidos significativamente superiores en los sujetos con hipercolesterolemia primaria). Entre los criterios de exclusión se incluyó el ejercicio físico, ya que un episodio agudo de actividad aeróbica puede reducir de manera significativa la lipemia postprandial hasta en un 24-35% así como aumentar la actividad de la LPL. Este descenso en la respuesta lipémica se relaciona con la intensidad y/o el gasto energético del ejercicio previo. Así, la realización de actividad física en las 24 horas previas a una ingesta de grasa mejora el aclaramiento de lípidos de la circulación(88). Por ello, los sujetos estudiados no eran deportistas de alto rendimiento y se evitó asimismo que realizaran ejercicio físico intenso el día previo a la SOG. Durante la realización de la misma se mantuvieron en reposo relativo.

Otro de los criterios de exclusión fue el tratamiento con fármacos que interfieren con los parámetros de inflamación estudiados. Marino et al. observaron que un tratamiento prolongado con estatinas en pacientes de alto riesgo cardiovascular se asociaba de manera consistente a una disminución de producción de IL-8(31). Además, las estatinas de mayor potencia en dosis moderadas-elevadas descenden los niveles plasmáticos de TG. Durante el tratamiento con estatinas se ha descrito una reducción en la secreción

hepática de lipoproteínas que contienen apoB. Asimismo, podrían intervenir también con una regulación al alza del receptor de LDL, con un aumento secundario del aclaramiento de VLDL y QM(82). Por ello, en el caso de las estatinas se retiraron al menos 6 semanas antes de realizar la SOG.

También el consumo de tabaco fue un motivo de exclusión, ya que los fumadores pueden presentar aumentos de hasta el 50% en la LPP, sin variar los niveles de TG basales(101), así como el consumo de alcohol (>30g/día), dado que estimula la secreción de partículas grandes de VLDL que compiten con los quilomicrones en su aclaramiento por la LPL(102). Además, todos los individuos incluidos en el estudio eran homocigotos para la isoforma E3 de la apo E, evitando de esta forma la variabilidad que podría derivarse de la inclusión de sujetos con diversas isoformas, ya que éstas difieren en su afinidad para unirse a los receptores específicos. De hecho, los sujetos homocigotos para apo E2 tienen un enlentecimiento en el aclaramiento de los remanentes, mientras que los portadores de apo E4 tienen un mejor aclaramiento(103).

Respecto al preparado utilizado para la SOG, a diferencia de la mayoría de estudios donde se emplean comidas mixtas, se decidió utilizar un preparado graso para evitar el posible factor de confusión que podrían ejercer el resto de componentes de la dieta (104–106). La solución utilizada para la realización de la SOG no contenía hidratos de carbono, proteínas ni fibra, para evitar la posible influencia sobre la respuesta lipídica (107–109). Además, en nuestro caso, el 100% de los lípidos eran LCT (triglicéridos de cadena larga), que ejercen un efecto sobre la trigliceridemia postprandial al entrar a la circulación general en forma de quilomicrones.

Respecto a la dosis de grasa necesaria, Dubois et al. observaron en sujetos normolipémicos que a medida que se incrementa la cantidad de grasa ingerida (0-50g) se produce un ascenso paralelo en los niveles séricos postprandiales de quilomicrones(85). La cuantificación de la grasa necesaria para obtener diferencias en los estudios ha sido motivo de controversia.

Los estudios realizados con dosis bajas (15g) o muy bajas (5g) de grasa arrojan resultados contradictorios en cuanto a la trigliceridemia postprandial. Algunos autores mantienen que una ingesta con <30 g de grasa no produce variaciones relevantes en la lipemia postprandial y que las ingestas habituales de grasa en sujetos normolipémicos

no producirían por tanto cambios significativos a este nivel(84). Otros, por el contrario, concluyen que pequeñas diferencias en la grasa ingerida, incluso dentro del rango de la ingesta grasa habitual, pueden acarrear resultados postprandiales muy variables(85). Dosis moderadas (30-50 g) podrían incrementar la trigliceridemia postprandial de manera dosis dependiente(88).

La mayoría de estudios se han realizado con un elevado aporte graso (p. ej. 1 g/kg de peso o 50-77 g/m² de superficie corporal), de ahí el término de “sobrecarga oral grasa”. Este aporte supera la ingesta grasa habitual así como la proporción grasa respecto a la ingesta calórica total(85). Dosis muy elevadas (a partir de 80g) exagerarían la respuesta postprandial de TG, perdiendo la dependencia con la dosis. Asimismo, también la ratio grasa: hidratos de carbono puede influir en la respuesta postprandial(110).

Finalmente, la dosis de grasa utilizada en este estudio ha sido la dosis estandarizada (50 g/m² de superficie corporal) utilizada por el grupo de Castro Cabezas, uno de los investigadores más prolíficos en el campo de la LPP (111).

2. Lipemia postprandial y parámetros de inflamación

La ECV, y por ende la AE, es una de las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial. La inflamación está presente en todas fases del proceso arteriosclerótico, con la intervención de numerosas células y mediadores histoquímicos.

Por otro lado, la LPP hace referencia a los cambios en el perfil lipídico que se producen tras una ingesta y se considera un factor de riesgo añadido para el desarrollo de ECV. Además, el tipo de grasa ingerida podría tener relación con la alteración de la función endotelial.

En este trabajo hemos estudiado las modificaciones postprandiales de parámetros inflamatorios en un modelo de alto riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia primaria. Las citoquinas que participan de manera relevante en este proceso podrían convertirse en objetivos potenciales de estrategias antiarterioscleróticas, añadidas a las terapias dirigidas a disminuir los niveles de colesterol.

Han sido varias las hipótesis que han relacionado los niveles séricos de triglicéridos con el desarrollo de AE. Inicialmente Zilversmit planteó que durante el periodo postprandial los quilomicrones se convierten en remanentes, pudiendo entonces atravesar la pared arterial cargados de colesterol y TG y depositarse en ella(112). Actualmente hay suficiente evidencia de que los remanentes de los quilomicrones son aterogénicos, y participan en la conversión de los macrófagos en células espumosas (82) (ver figura 27, parte izquierda).

Karpe et al. demostraron en pacientes muy seleccionados (varones jóvenes con cardiopatía isquémica sin hiperlipoproteinemia severa) que la concentración de remanentes de quilomicrones postprandiales tras una SOG se correlacionaba con la progresión de AE coronaria a 5 años (objetivado por coronariografías repetidas), si bien en el seguimiento fallecieron varios de los sujetos incluidos (113). Por otra parte, Goldberg et al. se cuestiona si las lipoproteínas de mayor tamaño (no remanentes) ricas en TG son también aterogénicas. Modelos animales parecen apoyar esta posibilidad, no siendo inocuas y pudiendo participar al depósito de colesterol en la pared arterial. Sin embargo, estas partículas serían menos aterogénicas que las lipoproteínas de menor tamaño(82). Quizás el mayor potencial tóxico de estas lipoproteínas ricas en TG no reside en la partícula intacta sino en los productos de su lipólisis en la pared arterial(114). La degradación de dichas partículas libera factores inflamatorios que alteran la biología endotelial así como aumenta la expresión de moléculas de adhesión y citoquinas (ver figura 27, parte derecha).

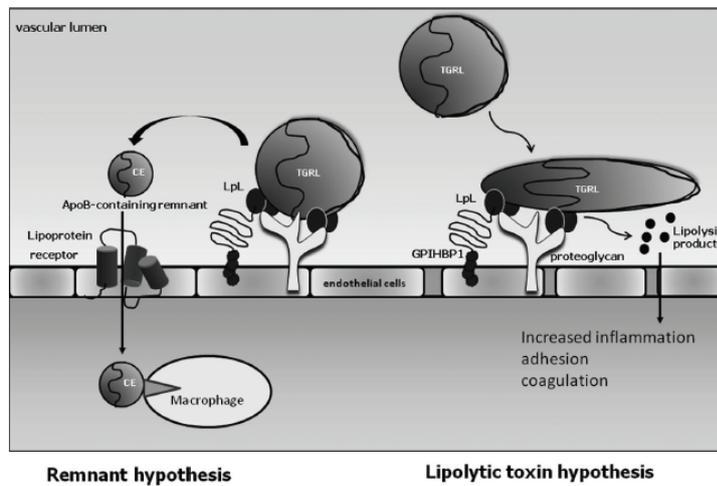


Figura 27: Aterogenicidad de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Tomada de: Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and Heart Disease Still a Hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(8):1716–25.(82)

Dentro del conjunto de las lipoproteínas ricas en TG, aquellas con apo B-100 parecen ser claves en pacientes con hipertrigliceridemia y ECV respecto a hipertrigliceridémicos sanos. Esto podría sugerir un nexo entre un acúmulo de VLDL y desarrollo de AE (113). Sin embargo, el 80% del incremento de triglicéridos postprandiales responde a lipoproteínas con apo B-48(115).

El aclaramiento de los remanentes de quilomicrones está mediado por la acción de la LPL, la lipasa hepática, la interacción de la apoE con receptores específicos y la unión a la superficie celular no mediada por receptores en el espacio de Disse. Varios receptores hepáticos pueden estar asimismo implicados en este proceso, entre los que destaca el receptor de LDL(116). Si bien la proteína estructural con mayor afinidad por estos receptores es la apoE, tanto los quilomicrones como sus remanentes contienen apoB48.

Estas dos paradojas no lo son en realidad, ya que por una parte los remanentes de quilomicrones acceden al espacio sinusoidal hepático (espacio de Disse) a través de la adherencia a un receptor extracelular, facilitada por la LPL. Acto seguido, se enriquecen con apoE y, tanto la LPL como la lipasa hepática facilitan su unión al receptor y su posterior procesamiento intracelular(116). Con este enriquecimiento previo, el

aclaramiento de los remanentes de quilomicrones en el hígado sucede por tanto mediante reconocimiento de apoE y no por apoB48(116).

Por otra parte, el equilibrio de las VLDL se modifica con la ingesta. En ayunas, tras su secreción hepática, la mayor parte de las VLDL pasarán a formar LDL a través de lipólisis. Por el contrario, en estado postprandial, los quilomicrones interfieren en este proceso, lo que conlleva que las VLDL permanezcan más tiempo en el plasma y se modifiquen de manera fisiológica, enriqueciéndose en colesterol, apo C-I y apo E. De este modo, adquieren características de remanente(115).

En el estudio de Castro Cabezas, los mejores predictores del aclaramiento de quilomicrones fueron la concentración plasmática en ayunas de apoE, c-LDL y TG. Una explicación posible sería que las partículas de c-LDL compiten con los quilomicrones y sus remanentes por una misma vía de eliminación. De este modo, cuando la vía de retirada es menos eficiente, como en el caso de la hipercolesterolemia familiar, esta competición puede tener como resultado un menor aclaramiento de partículas y por tanto, una presencia prolongada de las mismas en el plasma(116). El grupo de Castro Cabezas también observó que en estado postprandial se produce la activación del sistema del complemento. El componente C3 se ha asociado con obesidad, aterosclerosis coronaria, síndrome metabólico e hipertrigliceridemia en ayunas y postprandial. A su vez, los quilomicrones son uno de los estímulos más potentes para la producción de C3 por parte de los adipocitos, a través de la vía alternativa del complemento(81).

En nuestro estudio, los valores de los parámetros inflamatorios estudiados en situación de ayuno son mayores en los sujetos con hipercolesterolemia primaria. De todos ellos, destacan la IL-1 β , IL-8 y eotaxina por presentar diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles. Dado que la ECV se considera un proceso inflamatorio, era esperable esta diferencia entre los dos grupos en situación basal. Nuestro grupo ya mostró en un estudio previo que los sujetos con HF tenían niveles plasmáticos más elevados de marcadores de inflamación de bajo grado (IL-1, IL-6 y PCRas) y mayor actividad de NF-kB en células mononucleares circulantes respecto a controles(117).

Por lo que respecta a la IL-1 β , el estudio CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study) se diseñó específicamente para evaluar su papel en el desarrollo de AE. Su objetivo fue determinar si la inhibición de esta IL (respecto a placebo) reducía la tasa de ECV recurrente en pacientes con enfermedad coronaria estable pero que seguían siendo de alto riesgo cardiovascular (determinado por PCRas ≥ 2 mg/L) a pesar de las estrategias vigentes de prevención secundaria(118). En los pacientes incluidos se objetivó una disminución de parámetros inflamatorios al inhibir la IL-1, sin cambios en los niveles de c-LDL ni c-HDL(119).

También Kirii et al. observan que un déficit de IL-1 se asocia con una reducción de aproximadamente un 33% de lesiones ateroscleróticas en animales apoE -/- como modelo de alto riesgo CV(41). Los resultados de Chamberlain en modelos animales en los que se inhibe IL-1 también siguen esta línea, con una reducción significativa de la formación de la placa de ateroma y el aumento de PA (40).

Por lo que respecta a la IL-8, en los estudios de Inoue et al. fue la única citoquina capaz de predecir el desarrollo de EVC de manera independiente (120). Marino et al. también observaron que los PMN de sujetos con alto riesgo CV presentan una producción aumentada de IL-8, respecto a pacientes con enfermedad arterial periférica que habían sido sometidos a endarterectomía femoral(31), tanto en situación basal como tras estímulo. Aunque no hay estudios intraplaca, esta mayor secreción de IL-8 en PMN circulantes sugiere que el mayor acúmulo de IL-8 intraplaca podría deberse más a un acúmulo de estas células en la lesión que a una mayor capacidad de producción (31).

Respecto a la eotaxina, Wang objetivó que una delección del gen de la tenascina en un modelo animal de alto riesgo CV (ratones apoE -/-) supuso un aumento en los niveles plasmáticos de eotaxina, que además se correlacionaron con una mayor extensión del proceso arteriosclerótico(74).

Existe evidencia epidemiológica de que el tipo de grasa ingerida puede modular el proceso inflamatorio subyacente en la AE, modificando las propiedades y la composición de las lipoproteínas así como su interacción con el endotelio y la quimiotaxis celular en el estado postprandial(121). Las grasas insaturadas presentan beneficios a este nivel, en comparación con las grasas saturadas(122).

Varios autores han estudiado el efecto antiinflamatorio de la dieta mediterránea a nivel cardiovascular. Se ha observado una disminución de los niveles circulantes de biomarcadores inflamatorios y celulares relacionados con la AE en sujetos de alto riesgo cardiovascular que seguían estas recomendaciones dietéticas. En concreto, Urpi et al. objetivaron una disminución significativa en las concentraciones plasmáticas de IL-6 y del receptor del factor de necrosis tumoral 60 y 80(123).

También se han realizado múltiples estudios de intervención basados en modificaciones dietéticas. En la mayoría de ellos se ha utilizado la mantequilla como fuente de grasa saturada frente al aceite de oliva como aporte de ácidos grasos principalmente monoinsaturados (MUFA) y las nueces como fuente de poliinsaturados (PUFA). Llorente et al. observaron que la dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen reducía el incremento de marcadores de inflamación (ciclooxigenasa-2 y la proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas LRP-1) respecto a la suplementación con nueces o la dieta de control. (124). El grupo de Bellido et al. también obtuvo resultados similares, ya que la ingesta de una comida enriquecida en aceite de oliva no provocó la activación postprandial de NF-kB en monocitos plasmáticos; en comparación a la ingesta de mantequilla y nueces(125). En la misma línea, Cortés et al. objetivaron una función endotelial postprandial conservada así como un decremento en los marcadores inflamatorios en sujetos hipercolesterolémicos que siguieron dietas enriquecidas con cantidades elevadas de grasas insaturadas, procedentes de nueces o aceite de oliva(122). Los resultados de Jiménez-Gómez et al. también siguen esta misma idea, ya que observaron una menor respuesta inflamatoria postprandial tras un desayuno con aceite de oliva y nueces comparado con mantequilla en varones sanos(126). Sin embargo, algunos autores como Tholstrup et al. no observaron diferencias en marcadores inflamatorios al comparar los efectos de una sobrecarga grasa de mantequilla de coco rica en ácido esteárico frente a una sobrecarga grasa de aceite de oliva en mujeres sanas(127).

A la luz de estos resultados, la dieta mediterránea podría influir en la expresión de genes relacionados con la inflamación vascular, la formación de células espumosas y trombosis. Las intervenciones dietéticas podrían modular de manera activa dicha expresión de genes aterotrombóticos, incluso en poblaciones de alto riesgo(124). Sin

embargo, todos estos estudios realizados con modificaciones dietéticas no permiten extraer conclusiones definitivas, ya que al no evaluar de manera individual el tipo de grasa administrada, no puede descartarse la influencia de otros factores en los resultados. Como ejemplo, los efectos beneficiosos del aceite de oliva podrían asociarse a la ingesta de MUFA o bien al efecto protector de sus componentes antioxidantes. Por este motivo, como ya se expuso, realizamos las SOG con un preparado estandarizado, libre de polifenoles y otros componentes antioxidantes que pudieran modificar los niveles de citoquinas.

En nuestro estudio, durante la SOG, los niveles de CT y c-LDL se mantienen elevados en el grupo de hipercolesterolemia primaria, similar a sus niveles basales. En cambio, al analizar el comportamiento de los TG durante la SOG se observa que alcanzan un pico máximo más precoz en los sujetos con hipercolesterolemia primaria (a las 2 horas) respecto a los controles (4 horas). En ambos grupos, posteriormente los niveles retornan a niveles de ayuno de manera paralela, incluso alcanzando valores discretamente menores a los iniciales en el grupo de hipercolesterolemia primaria.

En cambio, al analizar los parámetros de inflamación durante la SOG, destaca la estabilidad de todos ellos en el grupo de controles a excepción de la eotaxina, que aumenta. Por el contrario, en el grupo de hipercolesterolemia primaria, los parámetros inflamatorios disminuyen tras la SOG, incluyendo la eotaxina. A nivel intragrupo, de todos estos parámetros, la IL-8, EGF y la eotaxina alcanzan diferencias estadísticamente significativas respecto a los niveles basales (a las 8 horas, 6 y 8 horas, 8 horas respectivamente) en los sujetos con hipercolesterolemia primaria. De este modo, en el grupo de hipercolesterolemia primaria, los cambios en el metabolismo lipídico no se corresponden con los cambios a nivel inflamatorio durante la SOG. Nuestros resultados concuerdan con los aportados previamente, también utilizando Supracal® para evaluar la respuesta postprandial, como es el caso de Cortés et al(121).

En el estudio de Chamberlain et al. los niveles plasmáticos de IL-1 β y IL-1ra no se modificaron tras la ingesta de grasa. Postulan que la IL-1 β madura plasmática es un parámetro difícil de interpretar ya que es una proteína no-secretada y IL-1ra se comporta como un reactante de fase aguda con mucha variabilidad en sus niveles. Así,

los verdaderos cambios en marcadores inflamatorios es más probable que sucedan a nivel local en la pared vascular (40).

La idea de que los ácidos grasos pueden modular la sensibilidad/reactividad celular a las citoquinas es un concepto muy amplio. Caterina et al. sugirieron que la presencia de al menos un doble enlace en los ácidos grasos sería crucial para modular la interacción leucocitaria con el endotelio, siendo el efecto inhibitor mayor cuanto mayor número de dobles enlaces(128). De esto podría predecirse que la sustitución de los ácidos grasos saturados en los fosfolípidos de membrana por ácidos grasos aunque simplemente fuesen monoinsaturados, disminuiría la reactividad de las células endoteliales a las citoquinas(128).

Actualmente, la evidencia de eficacia clínica de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 sobre marcadores inflamatorios de riesgo CV sigue sin ser lo suficientemente sólida para extraer recomendaciones concretas en cuanto a dosis o duración de su suplementación (99). Los estudios realizados presentan resultados muy heterogéneos debido a importantes diferencias metodológicas en protocolos, posología y duración de tratamiento entre otros factores. La suplementación con ácidos grasos omega-3 mejora de manera significativa la función endotelial, sin afectar a la vasodilatación independiente del endotelio. Wang et al. sugieren que el efecto de los ácidos grasos omega-3 sobre el endotelio podría estar condicionado por el estado de salud previo del sujeto o la dosis de suplementación (129). Algunos autores plantean la posibilidad de que se induzcan cambios a nivel de la expresión del mRNA en genes inflamatorios seleccionados sin que necesariamente haya cambios en los niveles plasmáticos(130). Chamberlain et al. postulan que los ácidos grasos omega-3 han demostrado disminuir la actividad de la ciclooxigenasa-2 y de NADPH oxidasa, ambas inducidas por IL-1. Sugieren además que el nexo entre dieta y PA podría estar mediado por la IL-1(40).

Tampoco hay resultados concluyentes respecto al subtipo de ácidos grasos, sin poder determinar si el efecto antiinflamatorio se atribuye individualmente a EPA o DHA o un efecto sinérgico de ambos (99). Purcell et al. diseñaron un estudio para evaluar la respuesta vascular y oxidativa tras SOG, variando la composición de ácidos grasos insaturados (EPA + DHA vs DHA vs MUFA) en una población masculina sana pero

con fenotipo de riesgo metabólico. Aunque EPA y DHA pertenecen a una misma clase de ácidos grasos y tienen estructuras similares, podrían generar metabolitos con efectos opuestos en el periodo postprandial(131). Además, por lo que respecta a la influencia de los ácidos grasos omega-3 sobre la lipemia postprandial, no parece que ejerzan un efecto agudo tras SOG, posiblemente tengan que incorporarse previamente a las membranas celulares para un efecto antiinflamatorio(99). Cortés et al. propone que los efectos beneficiosos observados con ingesta de nueces podrían estar mediados por una mayor secreción y/o liberación de óxido nítrico en las células endoteliales, resultado a su vez de una mayor liberación de ácido linolénico(122).

En base a nuestros resultados y a la bibliografía existente, podemos concluir que el consumo de ácidos grasos insaturados puede, de manera directa o indirecta, modificar los niveles de citoquinas en pacientes hipercolesterolémicos. Sin embargo, no se conoce el mecanismo exacto que justifique estos cambios. Como sugiere el grupo de Cortés et al., es probable que actúen modificando las lipoproteínas postprandiales, y a su vez esto conlleve cambios en la reactividad vascular(121). Además, nuestro estudio tiene algunas limitaciones. La SOG realizada es una intervención puntual, y por tanto no podemos extrapolar los resultados a largo plazo. Por otro lado, dado que se trata de un preparado graso comercial no representa la ingesta fisiológica de grasa. Asimismo, no se ha comparado con una intervención con grasas saturadas.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio establecemos las siguientes conclusiones:

1. Los sujetos con hipercolesterolemia primaria, en situación de ayuno, presentan un perfil inflamatorio desfavorable relacionado con la AE.
2. Tras una SOG rica en ácidos grasos insaturados los sujetos con hipercolesterolemia primaria muestran un descenso postprandial en los parámetros de inflamación.
3. En sujetos con hipercolesterolemia primaria el efecto beneficioso postprandial con grasa insaturada en los parámetros de inflamación, podría contribuir a reducir la incidencia y prevalencia de ECV en este grupo de pacientes.

VII. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Guía europea sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica (versión 2012). *Rev Esp Cardiol*. 2012;65(10):937.e1-937.e66.
2. Linden F, Domschke G, Erbel C, Akhavanpoor M, Katus HA, Gleissner CA. Inflammatory therapeutic targets in coronary atherosclerosis—from molecular biology to clinical application. *Front Physiol* [Internet]. 2014;5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240064/>
3. Buckley ML, Ramji DP. The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. 2015;1852(7):1498–510.
4. McLaren JE, Michael DR, Ashlin TG, Ramji DP. Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: Implications for cardiovascular disease therapy. *Prog Lipid Res*. 2011;50(4):331–47.
5. Bertomeu V, Castillo-Castillo J. Situación de la enfermedad cardiovascular en España. Del riesgo a la enfermedad. *Rev Esp Cardiol*. 2008;15;8(Supl.E):2–9.
6. Baena Díez JM, del Val García JL, Tomàs Pelegrina J, Martínez Martínez JL, Martín Peñacoba R, González Tejón I, et al. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo en atención primaria. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58(4):367–73.
7. Ammirati E, Moroni F, Norata GD, Magnoni M, Camici PG. Markers of Inflammation Associated with Plaque Progression and Instability in Patients with Carotid Atherosclerosis. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4415469/>
8. de Lemos JA, Lloyd-Jones DM. Multiple biomarker panels for cardiovascular risk assessment. *N Engl J Med*. 2008 15;358(20):2172–4.
9. Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(19):1935–47.
10. Medrano MJ, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodríguez M. [Cardiovascular risk factors in Spanish population: metaanalysis of cross-sectional studies]. *Med Clínica*. 2005;124(16):606–12.
11. Stein EA, Raal FJ. Polygenic familial hypercholesterolaemia: does it matter? *The Lancet*. 2013;381(9874):1255–7.

12. Usifo E, Leigh SEA, Whittall RA, Lench N, Taylor A, Yeats C, et al. Low-density lipoprotein receptor gene familial hypercholesterolemia variant database: update and pathological assessment. *Ann Hum Genet.* 2012;76(5):387–401.
13. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007;4(4):214–25.
14. Taylor A, Wang D, Patel K, Whittall R, Wood G, Farrer M, et al. Mutation detection rate and spectrum in familial hypercholesterolaemia patients in the UK pilot cascade project. *Clin Genet.* 2010;77(6):572–80.
15. Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *Lancet Lond Engl.* 2013;381(9874):1293–301.
16. Hadfield SG, Horara S, Starr BJ, Yazdgerdi S, Bhatnagar D, Cramb R, et al. Are patients with familial hypercholesterolaemia well managed in lipid clinics? An audit of eleven clinics from the Department of Health Familial Hypercholesterolaemia Cascade Testing project. *Ann Clin Biochem.* 2008;45(Pt 2):199–205.
17. Furgione A, Sánchez D, Scott G, Luti Y, Arraiz N, Bermúdez V, et al. Dislipidemias primarias como factor de riesgo para la enfermedad coronaria. *Rev Latinoam Hipertens.* 2009;4(1):18–25.
18. Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(2):587–91.
19. Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Lerman-Garber I, Vázquez-Chávez C, Pérez Méndez Ó, Posadas Romero C. Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias: posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. *Rev Endocrinol Nutr.* 2004;12(1):7–41.
20. Davignon J, Genest J. Genetics of lipoprotein disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998;27(3):521–50.
21. Mata P, Alonso R, Ruíz-García A, Díaz-Díaz JL, González N, Gijón-Conde T, et al. [Familial combined hyperlipidemia: consensus document]. *Atencion Primaria Soc Esp Med Fam Comunitaria.* 2014;46(8):440–6.
22. Brouwers MCGJ, van Greevenbroek MMJ, Stehouwer CDA, de Graaf J, Stalenhoef AFH. The genetics of familial combined hyperlipidaemia. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(6):352–62.
23. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province MA, Pankow JS, Eckfeldt JH, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial

hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation*. 2003;108(5):519–23.

24. Wiesbauer F, Blessberger H, Azar D, Goliash G, Wagner O, Gerhold L, et al. Familial-combined hyperlipidaemia in very young myocardial infarction survivors (< or =40 years of age). *Eur Heart J*. 2009;30(9):1073–9.
25. Veerkamp MJ, de Graaf J, Hendriks JCM, Demacker PNM, Stalenhoef AFH. Nomogram to diagnose familial combined hyperlipidemia based on results of a 5-year follow-up study. *Circulation*. 2004;109(24):2980–5.
26. Zamora-Barrón M, Aguilar-Salinas CA, Hernández-Jiménez S, Gómez-Pérez FJ, Rull-Rodrigo J antonio. Prevalencia de síndrome metabólico en pacientes con hiperlipidemia familiar combinada. *Rev Endocrinol Nutr*. 2004;12(1):46–50.
27. Gaddi A, Cicero AFG, Odofo FO, Poli AA, Paoletti R, Atherosclerosis and Metabolic Diseases Study Group. Practical guidelines for familial combined hyperlipidemia diagnosis: an up-date. *Vasc Health Risk Manag*. 2007;3(6):877–86.
28. Leibowitz JO. *The History of Coronary Heart Disease*. University of California Press; 1970. 260 p.
29. Libby P, Ridker PM. Novel Inflammatory Markers of Coronary Risk Theory Versus Practice. *Circulation*. 1999;100(11):1148–50.
30. Libby P. History of Discovery: Inflammation in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(9):2045–51.
31. Marino F, Tozzi M, Schembri L, Ferraro S, Tarallo A, Scanzano A, et al. Production of IL-8, VEGF and Elastase by Circulating and Intraplaque Neutrophils in Patients with Carotid Atherosclerosis. *PLoS ONE* [Internet]. 2015 ;10(4). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4404350/>
32. Zernecke A, Bot I, Djalali-Talab Y, Shagdarsuren E, Bidzhekov K, Meiler S, et al. Protective Role of CXC Receptor 4/CXC Ligand 12 Unveils the Importance of Neutrophils in Atherosclerosis. *Circ Res*. 2008;102(2):209–17.
33. Mayer FJ, Gruenberger D, Schillinger M, Mannhalter C, Minar E, Koppensteiner R, et al. Prognostic value of neutrophils in patients with asymptomatic carotid artery disease. *Atherosclerosis*. 2013;231(2):274–80.
34. Binder CJ, Chang M-K, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K, Dewan A, et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nat Med*. 2002;8(11):1218–26.
35. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the

Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499–511.

36. Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, Yan Z-Q. Innate and Adaptive Immunity in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2002;91(4):281–91.
37. Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, Tedgui A. Recent Advances on the Role of Cytokines in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):969–79.
38. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in Atherosclerosis: From Pathophysiology to Practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2129–38.
39. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res*. 2008;79(3):360–76.
40. Chamberlain J, Francis S, Brookes Z, Shaw G, Graham D, Alp NJ, et al. Interleukin-1 Regulates Multiple Atherogenic Mechanisms in Response to Fat Feeding. *PLoS ONE*. 2009;4(4):e5073.
41. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, et al. Lack of Interleukin-1 β Decreases the Severity of Atherosclerosis in ApoE-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(4):656–60.
42. Beaulieu LM, Lin E, Mick E, Koupenova M, Weinberg EO, Kramer CD, et al. Interleukin 1 receptor 1 and interleukin 1 β regulate megakaryocyte maturation, platelet activation, and transcript profile during inflammation in mice and humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.;34(3):552–64.
43. Jiang S, Levine JD, Fu Y, Deng B, London R, Groopman JE, et al. Cytokine production by primary bone marrow megakaryocytes. *Blood*. 1994 ;84(12):4151–6.
44. Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA, et al. Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1 β synthesis. *J Cell Biol*. 2001;154(3):485–90.
45. Kaplanski G, Porat R, Aiura K, Erban JK, Gelfand JA, Dinarello CA. Activated platelets induce endothelial secretion of interleukin-8 in vitro via an interleukin-1-mediated event. *Blood*. 1993;81(10):2492–5.
46. Freigang S, Ampenberger F, Weiss A, Kanneganti T-D, Iwakura Y, Hersberger M, et al. Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 α and sterile vascular inflammation in atherosclerosis. *Nat Immunol*. 2013;14(10):1045–53.
47. Gaffen SL, Liu KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. *Cytokine*. 2004;28(3):109–23.

48. Kündig TM, Schorle H, Bachmann MF, Hengartner H, Zinkernagel RM, Horak I. Immune responses in interleukin-2-deficient mice. *Science*. 1993;262(5136):1059–61.
49. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiol Rev*. 2006;86(2):515–81.
50. Takatsu K. Interleukin 5 and B cell differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1998;9(1):25–35.
51. Frostegård J, Ulfgren AK, Nyberg P, Hedin U, Swedenborg J, Andersson U, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*. 1999;145(1):33–43.
52. Binder CJ, Hartvigsen K, Chang M-K, Miller M, Broide D, Palinski W, et al. IL-5 links adaptive and natural immunity specific for epitopes of oxidized LDL and protects from atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2004;114(3):427–37.
53. Sämpi M, Ukkola O, Päivänsalo M, Kesäniemi YA, Binder CJ, Hörkkö S. Plasma Interleukin-5 Levels Are Related to Antibodies Binding to Oxidized Low-Density Lipoprotein and to Decreased Subclinical Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(17):1370–8.
54. Silveira A, McLeod O, Strawbridge RJ, Gertow K, Sennblad B, Baldassarre D, et al. Plasma IL-5 concentration and subclinical carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):125–30.
55. Gerard C, Rollins BJ. Chemokines and disease. *Nat Immunol*. 2001;2(2):108–15.
56. Herder C, Baumert J, Thorand B, Martin S, Löwel H, Kolb H, et al. Chemokines and Incident Coronary Heart Disease Results From the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984–2002. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(9):2147–52.
57. Rothenbacher D, Müller-Scholze S, Herder C, Koenig W, Kolb H. Differential Expression of Chemokines, Risk of Stable Coronary Heart Disease, and Correlation with Established Cardiovascular Risk Markers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(1):194–9.
58. Wang N, Tabas I, Winchester R, Ravalli S, Rabbani LE, Tall A. Interleukin 8 Is Induced by Cholesterol Loading of Macrophages and Expressed by Macrophage Foam Cells in Human Atheroma. *J Biol Chem*. 1996;271(15):8837–42.
59. Apostolopoulos J, Davenport P, Tipping PG. Interleukin-8 Production by Macrophages From Atheromatous Plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16(8):1007–12.

60. Boekholdt SM, Peters RJG, Hack CE, Day NE, Luben R, Bingham SA, et al. IL-8 Plasma Concentrations and the Risk of Future Coronary Artery Disease in Apparently Healthy Men and Women The EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1503–8.
61. Barlow JL, McKenzie ANJ. Nuocytes: expanding the innate cell repertoire in type-2 immunity. *J Leukoc Biol.* 2011;90(5):867–74.
62. Cardilo-Reis L, Gruber S, Schreier SM, Drechsler M, Papac-Milicevic N, Weber C, et al. Interleukin-13 protects from atherosclerosis and modulates plaque composition by skewing the macrophage phenotype. *EMBO Mol Med.* 2012;4(10):1072–86.
63. Yakubenko VP, Hsi LC, Cathcart MK, Bhattacharjee A. From Macrophage Interleukin-13 Receptor to Foam Cell Formation. *J Biol Chem.* 2013;288(4):2778–88.
64. Oliphant CJ, Barlow JL, McKenzie ANJ. Insights into the initiation of type 2 immune responses. *Immunology.* 2011;134(4):378–85.
65. Raaz-Schrauder D, Klinghammer L, Baum C, Frank T, Lewczuk P, Achenbach S, et al. Association of systemic inflammation markers with the presence and extent of coronary artery calcification. *Cytokine.* 2012;57(2):251–7.
66. Rao VH, Kansal V, Stoupa S, Agrawal DK. MMP-1 and MMP-9 regulate epidermal growth factor-dependent collagen loss in human carotid plaque smooth muscle cells. *Physiol Rep.* 2014;2(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3966234/>
67. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med.* 2014(8):927–46.
68. Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev* Available from: <http://www.cgfr.co.uk/article/S1359610115000325/abstract>
69. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 (10):2054–61.
70. Tabibiazar R, Wagner RA, Deng A, Tsao PS, Quertermous T. Proteomic profiles of serum inflammatory markers accurately predict atherosclerosis in mice. *Physiol Genomics.* 2006;25(2):194–202.
71. Graziano FM, Cook EB, Stahl JL. Cytokines, chemokines, RANTES, and eotaxin. *Allergy Asthma Proc Off J Reg State Allergy Soc.* 1999;20(3):141–6.

72. Haley KJ, Lilly CM, Yang J-H, Feng Y, Kennedy SP, Turi TG, et al. Overexpression of Eotaxin and the CCR3 Receptor in Human Atherosclerosis Using Genomic Technology to Identify a Potential Novel Pathway of Vascular Inflammation. *Circulation*. 2000;102(18):2185–9.
73. Castillo L, Rohatgi A, Ayers CR, Owens AW, Das SR, Khera A, et al. Associations of Four Circulating Chemokines with Multiple Atherosclerosis Phenotypes in a Large Population-Based Sample: Results from the Dallas Heart Study. *J Interferon Cytokine Res*. 2010;30(5):339–47.
74. Wang L, Shah PK, Wang W, Song L, Yang M, Sharifi BG. Tenascin-C Deficiency in Apo E^{-/-} Mouse Increases Eotaxin Levels: Implications for Atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2013;227(2):267–74.
75. Tarantino G, Costantini S, Finelli C, Capone F, Guerriero E, La Sala N, et al. Carotid intima-media thickness is predicted by combined eotaxin levels and severity of hepatic steatosis at ultrasonography in obese patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *PLoS One*. 2014;9(9):e105610.
76. Kodali R, Hajjou M, Berman AB, Bansal MB, Zhang S, Pan JJ, et al. Chemokines induce matrix metalloproteinase-2 through activation of epidermal growth factor receptor in arterial smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*. 2006;69(3):706–15.
77. Ardigo D, Assimes TL, Fortmann SP, Go AS, Hlatky M, Hytopoulos E, et al. Circulating chemokines accurately identify individuals with clinically significant atherosclerotic heart disease. *Physiol Genomics*. 2007;31(3):402–9.
78. Peled A, Gonzalo JA, Lloyd C, Gutierrez-Ramos JC. The chemotactic cytokine eotaxin acts as a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor during lung inflammation. *Blood*. 1998;91(6):1909–16.
79. Zilverman DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*. 1979;60(3):473–85.
80. Jackson KG, Poppitt SD, Minihane AM. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. *Atherosclerosis*. 2012;220(1):22–33.
81. Alipour A, Elte JWF, van Zaanen HCT, Rietveld AP, Cabezas MC. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem Soc Trans*. 2007 ;35(3):466–9.
82. Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and Heart Disease Still a Hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(8):1716–25.
83. Cohn JS, Johnson EJ, Millar JS, Cohn SD, Milne RW, Marcel YL, et al. Contribution of apoB-48 and apoB-100 triglyceride-rich lipoproteins (TRL) to postprandial increases in the plasma concentration of TRL triglycerides and retinyl esters. *J Lipid Res*. 1993;34(12):2033–40.

84. Langsted A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Fasting and Nonfasting Lipid Levels Influence of Normal Food Intake on Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Cardiovascular Risk Prediction. *Circulation*. 2008;118(20):2047–56.
85. Dubois C, Beaumier G, Juhel C, Armand M, Portugal H, Pauli AM, et al. Effects of graded amounts (0-50 g) of dietary fat on postprandial lipemia and lipoproteins in normolipidemic adults. *Am J Clin Nutr*. 1998;67(1):31–8.
86. Klop B, Proctor SD, Mamo JC, Botham KM, Castro Cabezas M. Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases. *Int J Vasc Med* 2012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3179890/>
87. Petto J, Vasques LMR, Pinheiro RL, Giesta B de A, dos Santos ACN, Gomes Neto M, et al. Comparison of Postprandial Lipemia between Women who are on Oral Contraceptive Methods and Those who are not. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(3):245–50.
88. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 2007;98(3):458–73.
89. Alipour A, Elte JWF, van Zaanen HCT, Rietveld AP, Castro Cabezas M. Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler Suppl*. 2008;9(2):39–44.
90. Borén J, Matikainen N, Adiels M, Taskinen M-R. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2014;431:131–42.
91. Wang H, Knaub LA, Jensen DR, Jung DY, Hong E-G, Ko H-J, et al. Skeletal Muscle-Specific Deletion of Lipoprotein Lipase Enhances Insulin Signaling in Skeletal Muscle but Causes Insulin Resistance in Liver and Other Tissues. *Diabetes*. 2009;58(1):116–24.
92. Hwu C-M, Lin M-W, Liou T-L, Hsiao L-C, Liang K-W, Tsai T-T, et al. Fasting triglyceride is a major determinant of postprandial triglyceride response in postmenopausal women. *Menopause N Y N*. 2008;15(1):150–6.
93. Langsted A, Nordestgaard BG. Nonfasting Lipid Profiles: The Way of the Future. *Clin Chem*. 2015;61(9):1123–5.
94. Almeda-Valdes P, Cuevas-Ramos D, Mehta R, Muñoz-Hernandez L, Cruz-Bautista I, Perez-Mendez O, et al. Factors associated with postprandial lipemia and apolipoprotein A-V levels in individuals with familial combined hyperlipidemia. *BMC Endocr Disord* 2014;14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4253986/>

95. Cybulsky MI, Jr MAG. Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecules in Acute Inflammation and Atherogenesis. In: Simionescu N, Simionescu M, editors. *Endothelial Cell Dysfunctions* [Internet]. Springer US; 1992. p. 129–40. Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4899-0721-9_7
96. de Vries MA, Klop B, Eskes SA, van der Loos TLJM, Klessens-Godfroy FJM, Wiebolt J, et al. The postprandial situation as a pro-inflammatory condition. *Clínica E Investig En Arterioscler Publ Of Soc Esp Arterioscler*. 2014;26(4):184–92.
97. Botham KM, Wheeler-Jones CPD. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis. *Prog Lipid Res*. 2013;52(4):446–64.
98. Nordestgaard BG, Freiberg JJ. Clinical relevance of non-fasting and postprandial hypertriglyceridemia and remnant cholesterol. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011;9(3):281–6.
99. Rangel-Huerta OD, Aguilera CM, Mesa MD, Gil A. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a systematic review of randomised clinical trials. *Br J Nutr*. 2012;107(Supplement S2):S159–S170.
100. Lou-Bonafonte JM, Arnal C, Navarro MA, Osada J. Efficacy of bioactive compounds from extra virgin olive oil to modulate atherosclerosis development. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(7):1043–57.
101. Axelsen M, Eliasson B, Joheim E, Lenner RA, Taskinen MR, Smith U. Lipid intolerance in smokers. *J Intern Med*. 1995;237(5):449–55.
102. Fielding BA, Reid G, Grady M, Humphreys SM, Evans K, Frayn KN. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr*. 2000;83(6):597–604.
103. Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variation in apolipoprotein E. *J Clin Invest*. 1987;80(6):1571–7.
104. Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Abdo T, Tripathy D, Chaudhuri A, et al. Increase in intranuclear nuclear factor kappaB and decrease in inhibitor kappaB in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(4):682–90.
105. Ostman E, Granfeldt Y, Persson L, Björck I. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2005;59(9):983–8.

106. Hlebowicz J, Darwiche G, Björgell O, Almér L-O. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1552–6.
107. Layman DK, Baum JJ. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. *J Nutr.* 2004;134(4):968S–73S.
108. Lia A, Andersson H, Mekki N, Juhel C, Senft M, Lairon D. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(2):357–65.
109. Roche HM. Dietary carbohydrates and triacylglycerol metabolism. *Proc Nutr Soc.* 1999;58(1):201–7.
110. van Amelsvoort JM, van Stratum P, Kraal JH, Lussenburg RN, Houtsmuller UM. Effects of varying the carbohydrate:fat ratio in a hot lunch on postprandial variables in male volunteers. *Br J Nutr.* 1989;61(2):267–83.
111. van Oostrom AJ, van Dijk H, Verseyden C, Sniderman AD, Cianflone K, Rabelink TJ, et al. Addition of glucose to an oral fat load reduces postprandial free fatty acids and prevents the postprandial increase in complement component 3. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(3):510–5.
112. Zilversmit DB. A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. *Circ Res.* 1973;33(6):633–8.
113. Karpe F, Hellénus ML, Hamsten A. Differences in postprandial concentrations of very-low-density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. *Metabolism.* 1999;48(3):301–7.
114. Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, Rutledge JC. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *J Lipid Res.* 2009;50(2):204–13.
115. Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med.* 1999;246(4):341–55.
116. Cabezas MC, de Bruin TW, Westerveld HE, Meijer E, Erkelens DW. Delayed chylomicron remnant clearance in subjects with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med.* 1998;244(4):299–307.
117. Real JT, Martínez-Hervás S, García-García AB, Civera M, Pallardó FV, Ascaso JF, et al. Circulating mononuclear cells nuclear factor-kappa B activity, plasma xanthine oxidase, and low grade inflammatory markers in adult patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2010;40(2):89–94.
118. Ridker PM, Thuren T, Zalewski A, Libby P. Interleukin-1 β inhibition and the prevention of recurrent cardiovascular events: rationale and design of the

- Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Am Heart J*. 2011;162(4):597–605.
119. Ridker PM, Howard CP, Walter V, Everett B, Libby P, Hensen J, et al. Effects of interleukin-1 β inhibition with canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen: a phase IIb randomized, placebo-controlled trial. *Circulation*. 2012;126(23):2739–48.
 120. Inoue T, Komoda H, Nonaka M, Kameda M, Uchida T, Node K. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2008;124(3):319–25.
 121. Cortes R, Ivorra C, Martínez-Hervás S, Pedro T, González-Albert V, Artero A, et al. Postprandial Changes in Chemokines Related to Early Atherosclerotic Processes in Familial Hypercholesterolemic Subjects: A Preliminary Study. *Arch Med Res*. 2016;47(1):33–9.
 122. Cortés B, Núñez I, Cofán M, Gilabert R, Pérez-Heras A, Casals E, et al. Acute Effects of High-Fat Meals Enriched With Walnuts or Olive Oil on Postprandial Endothelial Function. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(8):1666–71.
 123. Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, Romero-Mamani ES, Valderas-Martínez P, Arranz S, et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacol Res*. 2012;65(6):577–83.
 124. Llorente-Cortés V, Estruch R, Mena MP, Ros E, González MAM, Fitó M, et al. Effect of Mediterranean diet on the expression of pro-atherogenic genes in a population at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2010;208(2):442–50.
 125. Bellido C, López-Miranda J, Blanco-Colio LM, Pérez-Martínez P, Muriana FJ, Martín-Ventura JL, et al. Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor κ B in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6):1487–91.
 126. Jiménez-Gómez Y, López-Miranda J, Blanco-Colio LM, Marín C, Pérez-Martínez P, Ruano J, et al. Olive oil and walnut breakfasts reduce the postprandial inflammatory response in mononuclear cells compared with a butter breakfast in healthy men. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):e70-76.
 127. Tholstrup T, Teng K-T, Raff M. Dietary cocoa butter or refined olive oil does not alter postprandial hsCRP and IL-6 concentrations in healthy women. *Lipids*. 2011;46(4):365–70.
 128. Caterina RD, Liao JK, Libby P. Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(1):213S–223S.

129. Wang Q, Liang X, Wang L, Lu X, Huang J, Cao J, et al. Effect of omega-3 fatty acids supplementation on endothelial function: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):536–43.
130. Cawood AL, Ding R, Napper FL, Young RH, Williams JA, Ward MJA, et al. Eicosapentaenoic acid (EPA) from highly concentrated n-3 fatty acid ethyl esters is incorporated into advanced atherosclerotic plaques and higher plaque EPA is associated with decreased plaque inflammation and increased stability. *Atherosclerosis*. 2010;212(1):252–9.
131. Purcell R, Latham SH, Botham KM, Hall WL, Wheeler-Jones CP. High-fat meals rich in EPA plus DHA compared with DHA only have differential effects on postprandial lipemia and plasma 8-isoprostane F_{2α} concentrations relative to a control high-oleic acid meal: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2014;100(4):1019–28.