



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Doctorado en Medicina

TESIS DOCTORAL

**Influencia de la situación postprandial sobre el eje CCL11/CCR3
en sujetos con hipercolesterolemia**

Eva Perelló Camacho

DIRECTORES:

Dr. Juan Francisco Ascaso Gimilio

Dr. José Tomás Real Collado

Valencia, mayo de 2020



VNIVERSITATIS VALÈNCIAE

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Doctorado en Medicina

**Influencia de la situación postprandial sobre el eje CCL11/CCR3
en sujetos con hipercolesterolemia**

Eva Perelló Camacho

Licenciada en Medicina – Especialista en Endocrinología y Nutrición

DIRECTORES:

Prof. D. Juan Francisco Ascaso Gimilio

Profesor Emérito. Catedrático de Medicina. Departament de Medicina.
Universitat de València.

Prof. D. José Tomás Real Collado

Catedrático de Medicina. Departament de Medicina. Universitat de
València.

INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS

Director (es) / Codirector (es):

1.- Apellidos y nombre: Real Collado, José Tomás N.I.F. :24329722-T, Departamento/Instituto: Catedrático de Medicina. Departament de Medicina. Centro: Universitat de València.

2.- Apellidos y nombre: Ascaso Gimilio, Juan Francisco N.I.F.: 73722920-P, Departamento/Instituto: Catedrático Emérito de Medicina. Departament de Medicina. Centro: Universitat de València.

Directores de la tesis doctoral: “**Influencia de la situación postprandial sobre el eje CCL11/CCR3 en sujetos con hipercolesterolemia**” de D/Dña. Eva Perelló Camacho, estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe *favorable* para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: Valencia, 17 de junio de 2020

Fdo.: José T. Real Collado.

Fdo.: Juan F. Ascaso Gimilio.



Director



Director

Agradecimientos

Al Doctor Juan F. Ascaso, por su trato cercano desde el primer día, su sensatez, su meticulosidad y por ser en todo momento un ejemplo a seguir.

Al Doctor José T. Real, por su brillantez y su capacidad de transmitirme su ilusión por la investigación, que ahora me acompaña cada día en mi profesión.

A ambos, mis directores de tesis, por motivarme a hacer esta tesis, apoyarme y ayudarme siempre que ha sido necesario.

A Geles, por su disponibilidad absoluta con las extracciones y siempre de buen grado. A todo el personal de laboratorio, sin los que esta tesis no existiría.

A todos los adjuntos, residentes y personal del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Por su ayuda y por conseguir que ir a trabajar fuera felicidad.

A toda mi familia. A mis padres, por su apoyo incondicional y por haberme motivado a ser mejor cada día. A mis hermanos, por ser mi alegría, mi fuerza y mi guía.

A mis amigos, por aguantarme y quererme.

A todos los que han hecho posible esta tesis.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	11
TABLAS Y FIGURAS	13
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Enfermedad cardiovascular y arteriosclerosis	17
1.2 Hipercolesterolemia primaria.....	18
1.2.1 Hipercolesterolemia primaria e inflamación	20
1.3 Lipemia postprandial	21
1.4 Eotaxinas y receptor CCR3.....	24
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
2.1 Hipótesis de trabajo.....	29
2.2 Objetivos	30
3. MATERIAL Y MÉTODOS	31
3.1 Sujetos a estudio	33
3.2 Diseño	34
3.2.1 Sobrecarga oral grasa (SOG)	35
3.3 Métodos.....	36
3.4 Análisis estadístico.....	38
4. RESULTADOS	39
4.1 Comparación de los parámetros basales en pacientes con hipercolesterolemia primaria y en controles voluntarios sanos.....	41
4.1.1 Parámetros clínicos y antropométricos.....	41
4.1.2 Parámetros analíticos en ayunas.....	42
4.1.3 Marcadores inflamatorios en ayunas	43
4.2 Comparación de los parámetros estudiados en situación de ayuno y en situación postprandial.....	43
4.2.1 Modificaciones en los parámetros analíticos del grupo completo tras una SOG	44
4.2.2 Modificaciones en los marcadores inflamatorios del grupo completo tras una SOG	44

4.2.3	Modificaciones en los parámetros analíticos y marcadores inflamatorios del grupo control tras una SOG	45
4.2.4	Modificaciones en los parámetros analíticos y marcadores inflamatorios del grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria tras una SOG	46
4.2.5	Parámetros analíticos en situación postprandial	47
4.2.6	Marcadores inflamatorios en situación postprandial	50
4.2.7	Relación de los niveles de eotaxinas con los parámetros clínico-analíticos	52
4.3	Comparación de los parámetros estudiados en función del género.....	53
4.3.1	Parámetros clínicos y antropométricos en función del género	53
4.3.2	Parámetros analíticos en función del género.....	54
4.3.3	Marcadores inflamatorios en función del género	55
5.	DISCUSIÓN	57
5.1	Sobrecarga oral grasa y selección de pacientes.....	60
5.2	Características clínicas, analíticas y parámetros inflamatorios en situación basal	62
5.3	Lipemia postprandial y parámetros de inflamación	64
5.3.1	Efectos de la SOG sobre los parámetros analizados	64
5.3.2	Efectos de la SOG en función del género	68
6.	CONCLUSIONES	71
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	75

ABREVIATURAS

AE: Arteriosclerosis	kDa: Kilodalton
ApoB: Apolipoproteína B	TG: Triglicéridos
CCL11: Eotaxina-1	LDLRAP1: Proteína accesoria 1 del receptor de c-LDL
CCL24: Eotaxina-2	LPL: Lipoproteinlipasa
CCL26: Eotaxina-3	LPP: Lipemia postprandial
c-HDL: Colesterol HDL	MCP: Proteína quimiotáctica de monocitos
c-IDL: Colesterol IDL	MIP: Proteína inflamatoria de macrófagos
c-LDL: Colesterol LDL	MMP: Metaloproteinasa de la matriz extracelular
c-VLDL: Colesterol VLDL	OMS: Organización Mundial de la Salud
ECV: Enfermedad cardiovascular	PAD: Presión arterial diastólica
GOT: Transaminasa glutámico-oxalacética	PAS: Presión arterial sistólica
GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica	PCR-us: Proteína C reactiva ultrasensible
HF: Hipercolesterolemia familiar	PCSK9: Proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9
IgE: Inmunoglobulina E	SOG: Sobrecarga oral grasa
IgG: Inmunoglobulina G	TNF-α: Factor de necrosis tumoral α
IgM: Inmunoglobulina M	
IL: Interleuquina	
IMC: Índice de masa corporal	
IFN-γ: Interferón γ	
IP-10: Proteína 10 inducible por IFN- γ	

TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1. Composición Supracal® sabor neutro.....	36
Tabla 2. Características clínicas y antropométricas del grupo completo.....	42
Tabla 3. Características analíticas basales del grupo completo.	43
Tabla 4. Niveles basales de marcadores inflamatorios en el grupo completo.	43
Tabla 5. Parámetros analíticos basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.	44
Tabla 6. Niveles de marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.	45
Tabla 7. Parámetros analíticos y marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo control.....	45
Tabla 8. Parámetros analíticos y marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria.....	46
Tabla 9. Características analíticas a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.	47
Tabla 10. Niveles de marcadores inflamatorios a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.....	50
Tabla 11. Correlación de los marcadores inflamatorios con parámetros clínico- analíticos.....	53
Tabla 12. Características clínicas y antropométricas en función del género.	53
Tabla 13. Características analíticas en función del género, en situación de ayuno (t_0) y en situación postprandial (t_4).	55
Tabla 14. Niveles de parámetros inflamatorios en función del género, en situación de ayuno (t_0) y en situación postprandial (t_4).	56

FIGURAS

Figura 1. Metabolismo de las lipoproteínas.	22
Figura 2. Estructura de eotaxina unida al receptor CCR3.	24
Figura 3. Comparación de los niveles de glucemia en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	47
Figura 4. Comparación de los niveles de triglicéridos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	48
Figura 5. Comparación de los niveles de leucocitos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	48
Figura 6. Comparación de los niveles de eosinófilos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	48
Figura 7. Comparación de los niveles de plaquetas en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	49
Figura 8. Comparación de los niveles de IgG en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	49
Figura 9. Comparación de los niveles de IgM en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	49
Figura 10. Comparación de los niveles de IgE total en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	50
Figura 11. Comparación de los niveles de eotaxina-1 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	51
Figura 12. Comparación de los niveles de eotaxina-2 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	51
Figura 13. Comparación de los niveles de eotaxina-3 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.	51

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedad cardiovascular y arteriosclerosis

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, a pesar de la mejoría que se ha producido en las últimas décadas (1). En España, según los últimos informes del Instituto Nacional de Estadística (2018) la ECV se mantiene como la primera causa de muerte, con una tasa de 267,6 fallecidos por cada 100000 habitantes, siendo dentro de estas la primera causa las enfermedades isquémicas del corazón y la segunda las enfermedades isquémicas cerebrovasculares. De forma más detallada, la ECV isquémica fueron la primera causa de mortalidad femenina (286,9 fallecidas por cada 100000 habitantes) y la segunda masculina (247,6 fallecidos por cada 100000 habitantes) tras los tumores, y concretamente entre las mujeres predominaron las enfermedades cerebrovasculares y entre los varones las enfermedades isquémicas del corazón (2).

Por todo esto es fundamental la prevención de los factores de riesgo cardiovascular, así como su detección precoz y tratamiento temprano en los casos que corresponda. La prevención se define como todas aquellas acciones que tienen como objetivo eliminar o minimizar el impacto de las ECV y la discapacidad asociada a ellas, tanto a nivel individual como poblacional (3).

La base patogénica de la ECV isquémica es la arteriosclerosis (AE). Las consecuencias de la AE, tanto a nivel local como a nivel sistémico, están relacionadas con la aparición y posterior progresión de la placa aterotrombótica. La AE es una entidad patológica caracterizada por el endurecimiento y la pérdida de elasticidad de la pared arterial, con la formación de una placa arteriosclerótica resultante del acúmulo de lípidos y material fibroso entre las capas íntima y media del vaso. Esto condiciona la disminución del diámetro de la luz arterial, con el consiguiente riesgo de isquemia y necrosis del territorio dependiente de la arteria ocluida. Afecta fundamentalmente a las arterias de mediano y de gran calibre (4). Todo esto hace de

la arteriosclerosis un claro factor implicado en la ECV isquémica, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) insiste en la importancia de continuar la investigación sobre arteriosclerosis y sus posibles dianas terapéuticas (5).

En la patogenia de la AE intervienen múltiples causas, tanto en el inicio como en la progresión de la enfermedad. Se han identificado factores genéticos y ambientales que incrementan el riesgo de desarrollar arteriosclerosis (6). Entre ellos, tradicionalmente los niveles plasmáticos de colesterol LDL (c-LDL) se han considerado como el principal factor condicionante y además es un factor causal. Su acumulación en el espacio subendotelial es uno de los primeros eventos asociado al desarrollo de lesiones ateroscleróticas e interviene en todas las fases de la AE. No obstante, a menudo aparece ECV isquémica en sujetos que presentan niveles de c-LDL en el rango normal. Es cierto que existe una asociación, pero esta asociación no es del todo directa. Esto nos hace plantearnos la existencia de otros factores determinantes en el desarrollo de la AE (7). Numerosas evidencias indican que la inflamación y la activación constante del sistema inmune juegan un importante papel en el desarrollo de AE prematura y de sus complicaciones. El primer evento celular detectable morfológicamente en la aterogénesis, tras la infiltración lipídica, es la adhesión focal de monocitos circulantes al endotelio y su migración a la íntima. Las partículas de c-LDL inician una serie de reacciones proinflamatorias que perpetúan la activación, reclutamiento y transmigración de diferentes células del sistema inmunitario. Una mejor comprensión de la respuesta inflamatoria sistémica podría ayudarnos a establecer nuevas estrategias terapéuticas que podrían inhibir o incluso prevenir la formación de la placa aterotrombótica (8,9).

1.2 Hipercolesterolemia primaria

La hipercolesterolemia es una entidad caracterizada por un aumento de c-LDL. Su prevalencia en la población general española se encuentra en torno al 20%, lo que la hace uno de los factores de riesgo cardiovascular más prevalentes, superado solo en algunos estudios por la hipertensión arterial (10,11). Además, la mayoría de estos pacientes tienen asociados otros factores de riesgo cardiovascular, lo que les

convierte en pacientes de alto riesgo cardiovascular (12). La aterogenicidad del c-LDL ha sido demostrada en múltiples estudios experimentales, epidemiológicos, genéticos y de intervención farmacológica y se considera uno de los factores de riesgo más importantes para la ECV isquémica, especialmente cuando se asocia a otros factores de riesgo.

Se define como hipercolesterolemia primaria cuando se identifica una base genética, claros antecedentes familiares, o se descarta la existencia de causas secundarias. Entre las causas de hipercolesterolemia primaria se incluyen patologías muy diferentes a nivel genético, como son la hipercolesterolemia familiar o la hipercolesterolemia poligénica (13).

La hipercolesterolemia familiar (HF) es un trastorno genético autosómico dominante, debido generalmente a mutaciones en el receptor de c-LDL. Hay descritas más de 1600 mutaciones diferentes. Los pacientes pueden ser homocigotos, con 2 mutaciones idénticas; heterocigotos compuestos, cuando presentan una mutación distinta en cada alelo; o heterocigotos si solo tienen un alelo mutado. En todos los pacientes con HF, los niveles de c-LDL se encuentran ya elevados al nacer y permanecen elevados a lo largo de la vida, ocasionándoles un alto riesgo de ECV prematura, de hasta 20 veces mayor que en la población general (14,15). La forma heterocigota es uno de los trastornos hereditarios más frecuentes, su prevalencia se ha considerado tradicionalmente de 1 de cada 500 individuos, aunque estudios recientes sugieren que puede ser mayor (16), incluso de 1 de cada 192 en estudios recientes españoles (17). En la etapa adulta, sin tratamiento, la determinación de c-LDL objetiva cifras entre 200-500 mg/dL, mientras que los niveles de triglicéridos (TG) y HDL permanecen normales o incluso bajos (18). Clínicamente, se observan xantomas tendinosos, que son depósitos intra- y extracelulares de colesterol en los tendones. La forma homocigota de HF tiene una frecuencia de 1:1000000 y se acompaña de niveles de c-LDL 4-8 veces superiores a lo normal (mayores a 500 mg/dL). Esto lleva a la aparición de eventos cardiovasculares que pueden aparecer en las primeras décadas de la vida, por lo que es importante detectarlo desde la

infancia. Se estima que existe un infradiagnóstico e infratratamiento de los pacientes con HF (19).

El gen del receptor de c-LDL está en el brazo corto del cromosoma 19 (19p13.1-13.3) y sus mutaciones son responsables de aproximadamente más del 70% de los casos de HF y pueden ser por delección, inserción, con pérdida de sentido o sin sentido. Estos defectos pueden ser clasificados en 5 categorías, según afecten a la unión del ligando, al transporte, a la internalización, al reciclaje, o bien produzcan una completa ausencia de receptores (15). No obstante, hay otros casos que pueden deberse a mutaciones en el gen que codifica la apolipoproteína B (ApoB, ligando para el receptor de c-LDL) o en el gen de PCSK9 (implicado en la degradación del receptor de c-LDL). Otros casos mucho más infrecuentes podrían deberse a defectos en la proteína accesoria 1 del receptor de c-LDL (LDLRAP1), lo cual provocaría un cambio en la localización del receptor de c-LDL en la membrana hepatocitaria y se transmite de forma autosómica recesiva.

Por otra parte, la hipercolesterolemia poligénica es aquella en la que intervienen múltiples genes que interactúan con el ambiente. El diagnóstico de estos pacientes se realiza cuando se objetivan cifras de c-LDL mayores de 160 mg/dL, aunque en la mayoría de casos encontramos cifras >190 mg/dL, en ausencia de xantomas tendinosos y habiéndose descartado otras alteraciones monogénicas (20). Los niveles de TG y c-HDL permanecen en valores normales, igual que en la hipercolesterolemia familiar comentada previamente.

1.2.1 Hipercolesterolemia primaria e inflamación

La hipercolesterolemia primaria se asocia con un bajo grado de inflamación sistémica, y esto podría estar relacionado con la alta incidencia de ECV isquémica en estos pacientes. Diferentes estudios han mostrado que algunos marcadores inflamatorios, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la interleuquina 1 (IL-1), la interleuquina 6 (IL-6), el interferón γ (IFN- γ) y la proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us), se detectan en concentraciones mayores en sujetos con hipercolesterolemia que en sujetos control (21).

Además, se han descrito varias citoquinas quimiotácticas involucradas en la etapa inicial del proceso aterosclerótico (22). Las citoquinas quimiotácticas, también conocidas como quimioquinas, son una familia de aproximadamente 50 proteínas de bajo peso molecular (entre 8 y 15 kDa) pertenecientes a la familia de las citoquinas. Todas las quimioquinas son estructuralmente similares, presentando tres láminas plegadas β conectadas por asas, un asa en la región amino-terminal y una hélice β en el dominio C-terminal. Además, presentan pares de cisteína unidos por puentes de disulfuro, que son imprescindibles para ejercer su función. Dependiendo del número y la secuencia de estas cisternas en el dominio amino-terminal se clasifican en 4 subfamilias: alfa, beta, gamma y delta. Las quimioquinas se caracterizan por su capacidad de inducir la migración y activación de diferentes poblaciones leucocitarias, y ejercen su acción mediante la interacción con receptores de siete dominios transmembrana acoplados a proteínas G. Esta interacción ocurre en dos pasos: la unión de la quimioquina con la parte terminal del receptor, que provoca un cambio de conformación que resultará en la activación del receptor, y posteriormente tendrá lugar la respuesta quimiotáctica por la cual el leucocito se moverá a favor de un gradiente quimiotáctico para su reclutamiento en el foco inflamatorio.

Se ha demostrado la participación de las quimioquinas en enfermedades autoinmunes, patologías inflamatorias, VIH y en el desarrollo de las metástasis (23). Algunas de ellas también se han encontrado en concentraciones elevadas en sujetos con hipercolesterolemia, como la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1/CCL2), la proteína inflamatoria de macrófagos 1α (MIP- 1α /CCL3) y 1β (MIP- 1β /CCL4), la interleuquina 8 (IL-8/CXCL8) y la proteína 10 inducible por interferón y (IP-10/CXCL10) (24).

1.3 Lipemia postprandial

El concepto de “lipemia postprandial” (LPP) se refiere a los cambios de partículas lipídicas que se producen tras la ingesta, con un aumento de lipoproteínas

ricas en TG (25). Esto lleva al descenso de los niveles plasmáticos de colesterol HDL (c-HDL) y a la formación de partículas de c-LDL pequeñas y densas.

En nuestro entorno actual occidental, donde se suelen realizar 4-5 comidas diarias (cada una de ellas de unos 20-70 g de grasa), la respuesta postprandial puede durar, dependiendo de la cantidad y composición de la comida, hasta 8 horas. Por lo tanto, gran parte de la población pasa la mayor parte del día (aproximadamente 18 horas diarias) en estado postprandial, con una fluctuación continua de los niveles lipídicos a lo largo del día. Esto se acentúa en personas que tengan una ingesta de grasa mayor de lo habitual, en las que esta respuesta se prolonga y se magnifica (26). Por esta razón es importante tener en cuenta la importancia de la LPP (27).

Tras la ingesta, a partir de los productos de digestión de los lípidos se forman los quilomicrones, que son las lipoproteínas de menor densidad. Su principal componente son los TG, que se hidrolizan en parte por la enzima clave lipoproteinlipasa (LPL) de las superficies del endotelio capilar, de manera que los ácidos grasos libres resultantes son captados por los adipocitos y por otras células para su oxidación. La enzima LPL se transfiere al quilomicrón por el c-HDL. Asimismo, las partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL) son también ricas en TG, aunque algo más densas que los quilomicrones (con mayor contenido de colesterol). Su síntesis es endógena en el hígado y, en menor grado, en el intestino. Su metabolismo inicial es igual que el de los quilomicrones, y los productos de la acción de la LPL son las lipoproteínas de densidad intermedia (c-IDL). Estas se captan en parte por el hígado, junto con los quilomicrones residuales, y en parte forman c-LDL, lipoproteínas de baja densidad ricas en colesterol (28).

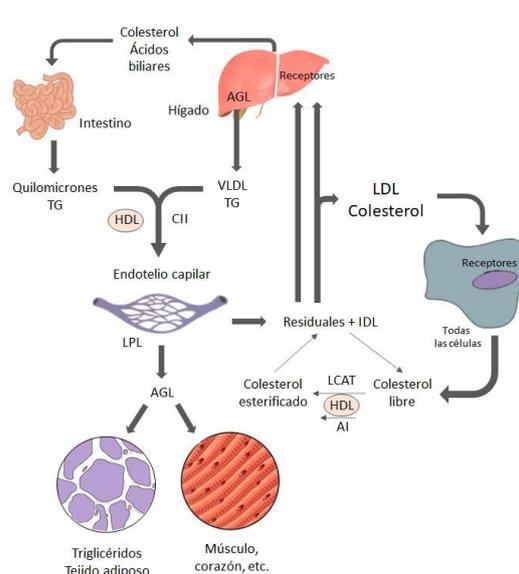


Figura 1. Metabolismo de las lipoproteínas.

TG: Triglicéridos. AGL: Ácidos grasos libres. LCAT: Enzima lecitina-colesterol acetiltransferasa. AI: apolipoproteína AI. CII: Apolipoproteína CII. Adaptado de Levy B, Koepfen B, Stanton B. *Metabolismo corporal total*. En: *Fisiología*. 4ª. Madrid; 2006. p. 601-16 (28).

La LPL es sintetizada en adipocitos, miocitos y macrófagos, y para ejercer su función necesita como cofactor a la apolipoproteína CII. Como se ha comentado previamente, su papel es fundamental en la hidrólisis de los TG de los quilomicrones y el c-VLDL. Esto explica que la deficiencia de LPL o de apolipoproteína CII se asocie a hipertrigliceridemia grave (18). Normalmente los TG de los quilomicrones se aclaran en un plazo de 12 horas tras la ingesta. Por ello, la determinación de TG en ayunas es un buen reflejo de la cantidad de TG endógenos presentes en la circulación, pero no de la LPP.

La cantidad de grasa diaria ingerida, así como su composición de ácidos grasos, puede retrasar la digestión y absorción de los lípidos, por lo que influye en la duración e intensidad de la lipemia postprandial. Varios estudios han demostrado mayor aumento de TG plasmáticos tras la ingesta de ácidos grasos saturados al compararlo con la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados n-6 (29,30); aunque en otros estudios no se ha objetivado esta diferencia al tomarlos asociados con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (31) ni se ha demostrado que hacer una dieta reemplazando los ácidos grasos saturados por poliinsaturados n-6 reduzca el riesgo de enfermedad coronaria o la mortalidad (32), de modo que la relación aún no es clara. La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados n-3 o monoinsaturados sí parece mostrar por sí misma mejoría en los niveles de lípidos circulantes en diversos estudios (33–35), también al compararlos con los ácidos grasos saturados (36). Además, la LPP también se ve influida por factores del individuo, tanto modificables (tabaco, alcohol, medicación, actividad física, hábitos dietéticos) como no modificables (edad, sexo, genética, patologías) (37).

La LPP se ha relacionado con el riesgo de ECV isquémica, habiéndose propuesto ya el considerar la AE como un fenómeno postprandial desde 1979 (38). Varios estudios han mostrado también posteriormente que una comida alta en grasas es una fuente directa de estrés oxidativo (26). El retraso en la eliminación de los TG postprandiales se asocia con la AE, demostrándose que la hipertrigliceridemia postprandial tiene efectos adversos en la función endotelial. Los quilomicrones remanentes, así como las partículas de c-LDL y c-VLDL, son altamente aterogénicas y

activan mecanismos inflamatorios, de activación plaquetaria, coagulación y fenómenos trombóticos (39). Así, en situación postprandial, las partículas lipídicas circulantes interactúan con el endotelio y se produce un incremento del número de neutrófilos con producción de citoquinas proinflamatorias y estrés oxidativo, contribuyendo estos cambios a la disfunción endotelial (40). Por este motivo, es muy probable que una LPP elevada actúe como un factor de riesgo cardiovascular independiente más, por lo que debería tenerse en cuenta en el estudio y tratamiento de las dislipemias (41).

1.4 Eotaxinas y receptor CCR3

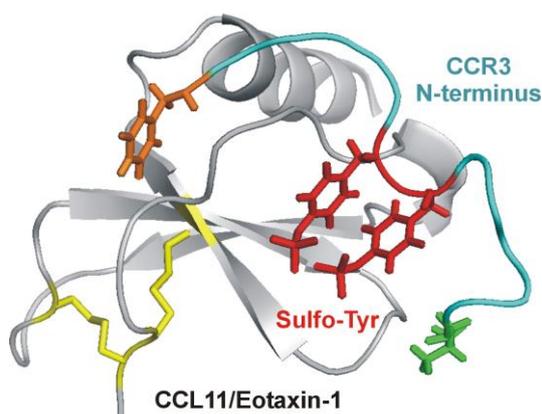


Figura 2. Estructura de eotaxina-1 unida al receptor CCR3.

Millard CJ, Ludeman JP, Canals M, Bridgford JL, Hinds MG, Clayton DJ, et al. Structural basis of receptor sulfotyrosine recognition by a CC chemokine: The n-terminal region of CCR3 bound to CCL11/eotaxin-1. *Structure*. 2014;22(11):1571-81 (44).

La eotaxina-1 (CC quimioquina ligando 11; CCL11) es una citoquina quimiotáctica activadora de eosinófilos del tipo CC (familia beta), es decir, está caracterizada por la presencia de dos residuos de cisteína adyacentes en su porción amino-terminal. El gen que la codifica se localiza en el brazo largo del cromosoma 17. Su receptor, CCR3, es un tipo de receptor de membrana acoplado a proteínas G perteneciente a la subfamilia A (receptores de tipo rodopsina). Este receptor está compuesto de unos 350 aminoácidos que contiene siete regiones

hidrofóbicas que forman siete hélices transmembrana. Es un receptor promiscuo que se expresa en diferentes tipos celulares como basófilos, mastocitos, linfocitos T y eosinófilos, siendo en los eosinófilos donde se encuentra en mayor número. Puede ser activado por varias quimioquinas, aunque de todas ellas las quimioquinas con mayor capacidad quimiotáctica de eosinófilos son las eotaxinas, las cuales son ligandos exclusivos de CCR3 (42). Por otra parte, una de las citoquinas que controla de manera negativa este receptor es la interleucina-3 (IL-3).

Dentro del grupo de las eotaxinas se encuentran también las quimioquinas conocidas como CCL24 (eotaxina-2) y CCL26 (eotaxina-3). Se trata también de quimioquinas ligandos del receptor CCR3 y con actividad quimiotáctica predominantemente sobre los eosinófilos, con un mecanismo de acción similar a la eotaxina-1. Los genes que las codifican se localizan en el cromosoma 7. Estas 3 eotaxinas serían por lo tanto los principales agonistas del receptor CCR3, aunque también se han identificado otros como RANTES (CCL5), la proteína inflamatoria de macrófagos 1 α o las proteínas quimiotácticas de monocitos (CCL8/MCP-2, CCL7/MCP-3 y CCL13/MCP-4), que además se unen a otros receptores (43,44).

El receptor CCR3 juega un papel fundamental en el desarrollo de enfermedades alérgicas como asma, dermatitis atópica y rinitis alérgica. El infiltrado inflamatorio en este tipo de enfermedades consiste sobre todo en eosinófilos, linfocitos T-*helper* 2 y mastocitos. Todos ellos expresan CCR3 en su superficie celular. Asimismo, la eotaxina-1 también se encuentra en mayores concentraciones en este tipo de patologías (23).

Los eosinófilos son observados con rara frecuencia en la placa aterotrombótica humana, pero sí se ha detectado la sobreexpresión de la eotaxina-1 y de su receptor, CCR3, en el infiltrado inflamatorio de la placa. Esto ha sido estudiado y se ha visto que la eotaxina-1 se expresa en múltiples tejidos como en corazón, pulmones, riñones, ganglios linfáticos, timo, intestinos, y también en las células musculares lisas de la placa de aterotrombosis, y contribuye a regular el proceso de movilización y activación de células (45). Se cree que en este caso probablemente tenga un papel en procesos inflamatorios no mediados por eosinófilos, y esto se ha visto respaldado por estudios realizados en ratones (46). Todo esto hace que la eotaxina-1 pueda ser considerada un marcador de AE y se relacione asimismo con el riesgo de ECV isquémica (42,47). No obstante, los datos son discordantes y también existen algunos estudios en los que no se demuestra esta asociación (48,49).

Además, trabajos previos realizados por nuestro grupo de investigación (no publicados) muestran niveles plasmáticos elevados de eotaxina-1 en los sujetos con

hipercolesterolemia frente a sujetos control sanos. Igualmente, se han detectado niveles elevados en ratones apoE^{-/-} sometidos a dieta aterogénica frente a aquellos sometidos a una dieta control, y la falta del receptor de esta quimioquina (CCR3) se tradujo en una aceleración del proceso aterosclerótico, incrementándose el grosor de la capa íntima-media arterial y el número de macrófagos en la lesión (47). También en modelos animales, se ha observado que la generación de algunas citoquinas como la eotaxina produce progresión del proceso de AE (50). Por otra parte, nuestro grupo también ha evidenciado que los niveles de marcadores inflamatorios en sujetos con hipercolesterolemia disminuyen 4 horas después de una sobrecarga oral grasa (SOG) estandarizada con un preparado comercial de TG de cadena larga, mientras que en sujetos sanos permanecen invariables. No obstante, el comportamiento y modificaciones en situación postprandial del eje inflamatorio CCL11/CCR3, así como el papel que tiene en la lesión arteriosclerótica, no están aún bien estudiados. Por ello, en este proyecto de tesis se abordará su estudio.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis de trabajo

Múltiples trabajos indican que la inflamación juega un importante papel en la aparición y desarrollo de la placa de AE, interviniendo en su patogénesis numerosas células y mediadores histoquímicos, que tienen un papel fundamental tanto en su inicio como en su progresión. De esta manera, se ha descrito una clara correlación entre el estado inflamatorio y la disfunción endotelial en pacientes con hipercolesterolemia primaria.

En todo este proceso intervienen diferentes citoquinas. Entre ellas, la eotaxina-1 y su receptor (CCL11/CCR3) han sido identificados en el infiltrado inflamatorio de la placa y se han detectado niveles elevados de eotaxina-1 en sujetos con hipercolesterolemia.

Por otra parte, se ha visto que la LPP podría ser considerada un factor de riesgo cardiovascular independiente y que actúa como inductor de citoquinas proinflamatorias y factores de estrés oxidativo. No obstante, aunque se han realizado estudios previos, los mecanismos que intervienen en este proceso continúan sin ser bien conocidos.

Por todo lo expuesto, nuestra **hipótesis de trabajo** es la siguiente:

En un modelo de alto riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia primaria, la elevación de la LPP conllevará la modificación del eje inflamatorio CCL11/CCR3 (eotaxina-1), así como de los otros principales ligandos del receptor CCR3 (eotaxinas 2 y 3), y esto podría influir en el desarrollo de la placa de AE.

2.2 Objetivos

Partiendo de los conocimientos anteriormente descritos, los objetivos de este trabajo son:

Objetivo principal:

Estudiar las modificaciones que se producen en situación postprandial en el eje inflamatorio CCL11/CCR3 (eotaxina-1), así como en los otros principales ligandos del receptor CCR3 (eotaxinas 2 y 3), en la inflamación sistémica asociada a la hipercolesterolemia primaria.

Objetivos secundarios:

- Comparar los valores circulantes de las eotaxinas 1, 2 y 3, como ligandos del receptor CCR3, en pacientes con hipercolesterolemia primaria frente a controles voluntarios sanos.
- Analizar cómo se modifican las eotaxinas 1, 2 y 3 desde la situación de ayuno a la situación postprandial, en pacientes con hipercolesterolemia primaria y en voluntarios sanos.
- Conocer si los niveles de eotaxinas 1, 2 y 3 se comportan de manera diferente en función del género.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Sujetos a estudio

En el estudio se incluyen un total de 43 sujetos participantes en el estudio: 22 pacientes con hipercolesterolemia primaria y 21 controles sanos, apareados por edad y sexo. Los casos participantes fueron seleccionados entre los pacientes de las Consultas Externas del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de Valencia entre los meses de enero y octubre de 2016, por el método oportunístico. Los controles fueron voluntarios sanos reclutados desde el Servicio de Endocrinología y Nutrición, correspondiendo todos ellos a personal investigador y sanitario del centro y a sus familiares.

- Criterios de inclusión:
 - Ambos grupos: Edad entre 18-65 años.
 - Casos:
 - Colesterol total > 240 mg/dL o c-LDL > 160 mg/dL.
 - TG < 200 mg/dL.
 - Sin tratamiento farmacológico hipolipemiante o con posibilidad de retirarlo 4 semanas antes de la SOG.
 - Controles:
 - Colesterol total < 200 mg/dL o c-LDL < 130 mg/dL.
 - TG < 150 mg/dL.
 - Glucemia en ayunas < 100 mg/dL.
- Criterios de exclusión:
 - ECV.
 - Diabetes mellitus.
 - Índice de masa corporal (IMC) > 35 kg/m².
 - Hábito tabáquico.
 - Ingesta de alcohol > 30 g/día.
 - Participación en programas de ejercicio físico intenso.
 - Variación de peso > 10% en los últimos 3 meses.
 - Insuficiencia hepática.

- Insuficiencia renal.
- Hipotiroidismo no controlado.
- Historia de enfermedad inflamatoria.
- Consumo de fármacos antiinflamatorios en las 6 semanas previas al estudio.

3.2 Diseño

Se trata de un estudio comparativo y de intervención postprandial, en el que se comparan sujetos con hipercolesterolemia primaria y controles normolipidémicos, en situación basal y en situación postprandial. La n calculada fue de 20 sujetos por grupo, apareados por edad y género.

El estudio se llevó a cabo siguiendo los principios de la Declaración de Helsinki y el procedimiento fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico Universitario de Valencia. A todos los sujetos participantes se les explicó adecuadamente el estudio y firmaron un consentimiento informado previo a su participación.

A todos los sujetos estudiados, una vez aceptada su participación en el estudio y habiendo firmado el consentimiento informado, se les realizó una historia clínica completa, incluyendo datos antropométricos, medición de presión arterial y análisis sanguíneo, para comprobar el cumplimiento de todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. A aquellos que tomaban algún fármaco hipolipemiante se les retiró 4 semanas antes del estudio y se les dieron recomendaciones nutricionales para mantener una dieta baja en colesterol. A aquellos que tomaban algún fármaco antiinflamatorio (que pudiera interferir con el estudio) se les retiró también 6 semanas antes. Los sujetos control mantuvieron sus hábitos dietéticos habituales. El día previo a la exploración, todos ellos se abstuvieron de la ingesta de alcohol y de actividad física intensa.

El procedimiento se llevó a cabo en la Unidad de Pruebas Funcionales del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de Valencia. En los sujetos participantes se realizó una extracción sanguínea en situación basal (t_0) a las 8.30 h, tras 12 horas de ayuno, realizando posteriormente una SOG estandarizada y repitiéndose la extracción a las 4 horas (t_4). Los análisis sanguíneos iniciales se realizaron tras un descanso de 30 minutos. Durante el tiempo que duró el estudio los sujetos permanecieron en reposo, sentados o en decúbito supino, y sin ingesta de ningún alimento (únicamente se permitió la ingesta de agua). Las muestras de sangre se recogieron en tubos heparinizados o con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

3.2.1 Sobrecarga oral grasa (SOG)

Todos los sujetos del estudio se sometieron a una SOG estandarizada. La SOG consistió en la ingesta vía oral de un preparado comercial de TG de cadena larga, que consta de 50 g de grasa por cada 100 mL, constituida por un 75% de ácidos grasos insaturados, procedentes de aceites vegetales (Supracal®; Nutricia). Cada 100 mL de este módulo nutricional contienen 50 g de grasa (450 kcal), de las cuales 5,3 g son grasas saturadas, 30,4 g monoinsaturadas y 14,3 g poliinsaturadas. La composición completa de este preparado comercial se muestra en la tabla 1.

La dosis de Supracal® ingerida fue de 25 g de grasa por cada m^2 de superficie corporal del sujeto. Las extracciones sanguíneas se realizaron al inicio (t_0) y a las 4 horas tras la SOG (t_4), como se ha explicado previamente.

Información nutricional	Por 100 mL	Ácidos grasos	g / 100 g de ácidos grasos
Valor energético (kcal)	450	Láurico (C12)	<1
Grasas (g) de las cuales:	50	Mirístico (C14)	<1
- Saturadas	5,3	Palmítico (C16)	10
- Monoinsaturadas	30,4	Esteárico (C18)	3
- Poliinsaturadas	14,3	Oleico (C18:1)	58
LCT (%)	100	Linoleico (C18:2)	20

Hidratos de carbono (g) de los cuales: - Azúcares	0,1 0	α -linoleico (C18:3) Araquidónico (C20) Eicosaenoico (C20:1)	<1 1 1
Proteínas (g)	0	Behénico (C22)	3
Fibra alimentaria (g)	0	Lignocérico (C24)	1
Sal (g)	0,02		
Minerales y elementos traza - Na (mg / mmol) - Cl (mg / mmol)	7 / 0,3 0,1 / 0		
Osmolaridad (mOsm/L)	0		

Tabla 1. Composición Supracal® sabor neutro.

3.3 Métodos

Se aplicó un protocolo de estudio para la recogida de datos, siendo los parámetros recogidos en situación basal (t_0) los siguientes:

- Parámetros clínicos:
 - Edad en años naturales.
 - Sexo.
 - Antecedentes personales médico-quirúrgicos, incluyendo eventos cardiovasculares.
 - Consumo de alcohol (gramos/día, u ocasional en el caso de no ser diario).
 - Consumo de tabaco. En caso de ser exfumador se documentó el número de años del hábito tabáquico, el número de cigarrillos/día fumados previamente y el año de abandono del hábito.
 - Ejercicio físico realizado medio (minutos/semana).
 - Fármacos de consumo habitual o consumidos ocasionalmente en las 6 semanas previas al estudio.
 - Procesos inflamatorios, infecciosos o alérgicos durante el período de estudio.

- Medición de la presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) previo a la primera extracción sanguínea, utilizando el valor medio de 3 mediciones separadas entre sí 5 minutos.
- Parámetros antropométricos:
 - Peso (kg) y talla (cm).
 - IMC (kg/m^2).
 - Perímetro de cintura (cm), determinado con el sujeto en bipedestación, con los pies juntos, los brazos a los lados y tras exhalar el aire, en el punto medio entre el extremo superior de la cresta ilíaca y el extremo inferior de la última costilla.
- Parámetros bioquímicos:
 - Hemograma.
 - Bioquímica estándar, incluyendo:
 - Perfil lipídico:
 - Colesterol total y TG, por método colorimétrico.
 - c-HDL tras precipitación con polianiones.
 - c-LDL calculado de manera indirecta con la fórmula de Friedewald: $\text{Colesterol total} - (\text{c-HDL} + \text{c-VLDL})$.
 - ApoB, por inmunoturbimetría.

Los coeficientes de variación para los lípidos y las lipoproteínas fueron $< 5\%$ en nuestro laboratorio.
 - Glucemia, por el método enzimático de glucosa oxidasa.
 - Función renal, mediante la determinación de la creatinina.
 - Perfil hepático: Transaminasas glutámico-oxalacética (GOT) y glutámico-pirúvica (GPT).
 - Inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgE total.

- Marcadores inflamatorios:

Para su medición, se recogieron muestras de sangre heparinizadas (17 UI heparina/mL) en tubos *BD Vacutainer*[®] (Beckton Dickinson and Company, EEUU) y fueron centrifugadas para obtener plasma, que se conservó a -80°C . Las quimioquinas se midieron utilizando la técnica ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, DuoSet[®]

ELISA Development Systems, R&D Systems, Abingdon, UK): CCL11 (eotaxina-1), CCL24 (eotaxina-2) y CCL26 (eotaxina-3). Los resultados se expresaron en pg/mL (concentración del marcador en plasma).

Los parámetros recogidos a las 4 horas (t_4) fueron los siguientes:

- Parámetros bioquímicos:
 - Hemograma.
 - Bioquímica estándar:
 - TG.
 - Glucemia.
 - Inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgE total.
- Marcadores inflamatorios: CCL11 (eotaxina-1), CCL24 (eotaxina-2), CCL26 (eotaxina-3).

Todos los parámetros clínicos y antropométricos fueron recogidos por el propio investigador. Las extracciones sanguíneas fueron realizadas por el personal de Enfermería de la Unidad de Pruebas Funcionales.

3.4 Análisis estadístico

Los sujetos hipercolesterolémicos y controles sanos estuvieron apareados por edad y sexo. El análisis estadístico se realizó con el programa informatizado Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software (versión 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA). Para cada variable, los resultados se expresan como media \pm desviación estándar.

Para las comparaciones entre los dos grupos experimentales e intragrupo entre los dos tiempos de estudio, se utilizó la prueba t de Student (para datos apareados o no apareados) en aquellos casos en los que podíamos asumir normalidad. Para las comparaciones o análisis entre las variables donde no se comprobó normalidad, se utilizó el test de Wilcoxon o el test de Mann-Whitney, para datos apareados y no apareados, respectivamente.

Para determinar el grado de relación entre variables cuantitativas se utilizó la correlación de Pearson. Los datos se consideraron estadísticamente significativos cuando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Comparación de los parámetros basales en pacientes con hipercolesterolemia primaria y en controles voluntarios sanos

En las tablas que se exponen a continuación vemos la comparación entre los parámetros clínicos, antropométricos y bioquímicos, así como los marcadores inflamatorios, en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria frente a los controles sanos. Se estudiaron un total de 43 sujetos: 22 pacientes con hipercolesterolemia primaria y 21 controles sanos, según los criterios de inclusión y exclusión comentados previamente.

4.1.1 Parámetros clínicos y antropométricos

En la tabla 2 se presentan las características generales (parámetros clínicos y antropométricos) del grupo de estudio completo: edad, sexo, IMC, perímetro de cintura, PAS, PAD y consumo de alcohol.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la PAD y en el consumo de alcohol entre los sujetos con hipercolesterolemia frente a los controles sanos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en edad, distribución por sexos, IMC, perímetro de cintura y PAS, parámetros en los que ambos grupos serían equiparables.

	Controles (n = 21)	Hipercolesterolemia primaria (n = 22)
Edad (años)	48,8 ± 12,5	49,0 ± 14,5
Sexo		
Hombre	3 (14,3)	4 (18,2)
Mujer	18 (85,7)	18 (81,8)
IMC (kg/m ²)	25,5 ± 3,2	25,7 ± 4,3
Perímetro de cintura (cm)	85,4 ± 8,9	85,7 ± 10,4
PAS (mmHg)	117,8 ± 10,1	124,7 ± 17,1

PAD (mmHg)	71,9 ± 8,3	78,5 ± 12,3 *
Consumo de alcohol		
0 g/día	21 (100,0)	14 (63,6)
10 g/día	0 (0,0)	1 (4,6)
Ocasional	0 (0,0)	7 (31,8) *

Tabla 2. Características clínicas y antropométricas del grupo completo.

Los datos de los parámetros cuantitativos se expresan como media ± desviación estándar. Los datos de los parámetros cualitativos se expresan como n (%).

* p < 0,05.

4.1.2 Parámetros analíticos en ayunas

En la tabla 3 se muestran los principales resultados analíticos en situación de ayuno del grupo completo. Como era esperable, por los criterios de selección, se detectan diferencias estadísticamente significativas en los niveles plasmáticos de colesterol total, c-LDL, TG y ApoB, siendo estos mayores en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria. No se encontraron diferencias significativas en el resto de parámetros.

	Controles (n = 21)	Hipercolesterolemia primaria (n = 22)
Glucosa (mg/dL)	86,7 ± 6,9	88,1 ± 8,7
CT (mg/dL)	206,1 ± 31,3	264,6 ± 41,9 *
c-HDL (mg/dL)	66,0 ± 11,5	63,4 ± 13,7
c-LDL (mg/dL)	130,6 ± 24,8	182,8 ± 29,2 *
TG (mg/dL)	81,0 ± 33,6	109,7 ± 39,7 *
ApoB (mg/dL)	92,5 ± 18,0	127,4 ± 23,6 *
Creatinina (mg/dL)	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1
GOT (U/L)	21,7 ± 4,2	22,8 ± 5,0
GPT (U/L)	18,3 ± 8,5	18,6 ± 5,2
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	5,6 ± 1,0	5,5 ± 1,1
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	3,1 ± 0,7	2,9 ± 0,8
Linfocitos (x10 ⁹ /L)	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,5
Basófilos (x10 ⁹ /L)	0,040 ± 0,017	0,043 ± 0,024
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	0,144 ± 0,125	0,155 ± 0,072
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	247,5 ± 51,8	247,1 ± 57,3
IgG (mg/dL)	966,7 ± 183,7	968,5 ± 161,5
IgM (mg/dL)	100,4 ± 33,0	125,8 ± 65,9

IgE total (UI/mL)	42,6 ± 53,8	50,4 ± 79,1
-------------------	-------------	-------------

Tabla 3. Características analíticas basales del grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

Estos datos nos muestran que los dos grupos son equiparables entre sí a nivel analítico, salvo en los parámetros que están en relación con los criterios de inclusión de cada grupo.

4.1.3 Marcadores inflamatorios en ayunas

En la tabla 4 se observan los niveles plasmáticos de las eotaxinas en el grupo completo, en situación basal (ayunas). Los niveles de eotaxina-1 y de eotaxina-3 fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria. Los niveles de eotaxina-2 fueron también mayores, pero sin llegar a ser estadísticamente significativos.

	Controles (n = 21)	Hipercolesterolemia primaria (n = 22)
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)	526,9 ± 256,6	706,7 ± 210,1 *
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)	265,1 ± 234,0	331,0 ± 239,4
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)	256,3 ± 258,2	683,2 ± 810,9 *

Tabla 4. Niveles basales de marcadores inflamatorios en el grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

Estos resultados indican que el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria tiene una elevación significativa de las eotaxinas críticas del eje inflamatorio en situación de ayunas, comparado con el grupo de sujetos sanos normolipidémicos.

4.2 Comparación de los parámetros estudiados en situación de ayuno y en situación postprandial

A continuación, se exponen las tablas en las que se comparan los parámetros analíticos y los marcadores inflamatorios, en situación de ayunas (t_0) y en situación postprandial tras la SOG (t_4) en el grupo completo, y comparando el grupo de pacientes con hipercolesterolemia frente al de controles sanos.

4.2.1 Modificaciones en los parámetros analíticos del grupo completo tras una SOG

En la tabla 5 queda reflejado el efecto de la SOG, presentándose los datos de los parámetros analíticos en el grupo completo, antes y después de la SOG. Los niveles de TG y leucocitos fueron significativamente mayores en situación postprandial, y los niveles de plaquetas menores, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros analizados: glucosa, eosinófilos, IgG, IgM e IgE total.

	t ₀ (n = 33)	t ₄ (n = 33)
Glucosa (mg/dL)	86,4 ± 8,2	86,5 ± 7,1 (↑0,1%)
TG (mg/dL)	104,4 ± 40,3	160,2 ± 77,4 (↑53,4%)*
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	5,5 ± 1,0	6,2 ± 1,1 (↑12,7%)*
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	0,145 ± 0,068	0,135 ± 0,071 (↓6,9%)
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	242,8 ± 54,6	235,6 ± 55,0 (↓3,0%)*
IgG (mg/dL)	967,2 ± 167,0	984,2 ± 177,5 (↑1,8%)
IgM (mg/dL)	118,0 ± 57,4	119,0 ± 56,4 (↑0,8%)
IgE total (UI/mL)	51,1 ± 73,4	51,9 ± 75,6 (↑1,6%)

Tabla 5. Parámetros analíticos basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar. Entre paréntesis se muestra el % de aumento o descenso.

* p < 0,05.

Destaca sobre todo el aumento de los niveles de TG, mayor del 50%, como era esperable por el aumento de lipoproteínas ricas en TG característico de la LPP.

4.2.2 Modificaciones en los marcadores inflamatorios del grupo completo tras una SOG

En la tabla 6 se presentan las diferencias en los niveles de las eotaxinas en el grupo completo, antes y después de la SOG. Se observa que los niveles de las eotaxinas 1, 2 y 3 fueron significativamente mayores en situación de ayunas que en situación postprandial.

	t ₀ (n = 33)	t ₄ (n = 33)
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)	652,8 ± 253,5	598,0 ± 244,1 (↓8,4%)*
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)	323,8 ± 249,3	287,5 ± 258,4 (↓11,2%)*

Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)	555,0 ± 745,2	323,8 ± 436,1 (↓41,7%)*
----------------------------	---------------	-------------------------

Tabla 6. Niveles de marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

4.2.3 Modificaciones en los parámetros analíticos y marcadores inflamatorios del grupo control tras una SOG

En la siguiente tabla (tabla 7) se muestra el efecto de la SOG, esta vez únicamente en el grupo control, comparándose los datos de parámetros analíticos y marcadores inflamatorios antes y después de la SOG. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TG, leucocitos, IgG, eotaxina-1 y eotaxina-2. En el resto de los parámetros las diferencias que se encontraron no fueron significativas.

	t ₀ (n = 11)	t ₄ (n = 11)
Glucosa (mg/dL)	82,9 ± 6,0	83,6 ± 4,3 (↑0,8%)
TG (mg/dL)	93,8 ± 41,2	135,6 ± 63,4 (↑44,6%)*
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	5,4 ± 1,0	6,0 ± 1,2 (↑11,1%)*
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	0,124 ± 0,054	0,128 ± 0,056 (↑3,2%)
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	234,2 ± 50,2	229,8 ± 50,7 (↓1,9%)
IgG (mg/dL)	964,6 ± 185,4	1001,5 ± 201,3 (↑3,8%)*
IgM (mg/dL)	102,4 ± 32,0	104,3 ± 33,3 (↑1,9%)
IgE total (UI/mL)	52,6 ± 64,0	53,0 ± 63,2 (↑0,8%)
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)	520,9 ± 312,4	465,4 ± 290,8 (↓10,7%)*
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)	308,1 ± 282,8	278,7 ± 285,8 (↓9,5%)*
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)	190,0 ± 71,7	201,3 ± 79,3 (↑5,9%)

Tabla 7. Parámetros analíticos y marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo control.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

Estos datos nos muestran que en el grupo de pacientes controles sanos el eje inflamatorio en el que intervienen las eotaxinas también se modifica en situación postprandial, produciéndose un descenso en los niveles de las mismas (estadísticamente significativo en eotaxina-1 y eotaxina-2).

4.2.4 Modificaciones en los parámetros analíticos y marcadores inflamatorios del grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria tras una SOG

En la tabla 8 se observan el efecto de la SOG en los sujetos con hipercolesterolemia primaria, mostrando los valores tanto en situación basal como postprandial (antes y después de la SOG). Fueron estadísticamente significativas las diferencias en los niveles de TG y leucocitos, siendo estos niveles mayores en situación postprandial. Los niveles de eosinófilos, plaquetas, eotaxina-1, eotaxina-2 y eotaxina-3 fueron significativamente mayores en situación basal.

	t ₀ (n = 22)	t ₄ (n = 22)
Glucosa (mg/dL)	88,1 ± 8,7	88,0 ± 7,9 (↓0,1%)
TG (mg/dL)	109,7 ± 39,7	172,5 ± 82,1 (↑57,2%)*
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	5,5 ± 1,1	6,3 ± 1,1 (↑14,5%)*
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	0,155 ± 0,072	0,139 ± 0,079 (↑10,3%)*
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	247,0 ± 57,3	238,4 ± 58,0 (↓3,5%)*
IgG (mg/dL)	968,5 ± 161,5	975,5 ± 168,8 (↑0,7%)
IgM (mg/dL)	125,8 ± 65,9	125,7 ± 64,5 (↓0,1%)
IgE total (UI/mL)	50,4 ± 79,1	51,3 ± 82,6 (↑1,8%)
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)	706,7 ± 210,1	652,3 ± 205,6 (↓7,7%)*
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)	331,0 ± 239,4	291,5 ± 252,0 (↓11,9%)*
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)	683,2 ± 810,9	359,8 ± 489,1 (↓47,3%)*

Tabla 8. Parámetros analíticos y marcadores inflamatorios basales y a las 4 horas tras la SOG en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

Observamos que en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia, el porcentaje de aumento de los niveles de TG en situación postprandial es mayor que en el grupo control (57,2% vs 44,6%), aunque en ambos casos es estadísticamente significativo.

Además, se produce un descenso estadísticamente significativo de los niveles de las eotaxinas 1, 2 y 3. Cabe destacar sobre todo el descenso de eotaxina-3 (↓47,3%), que en el grupo de voluntarios sanos no se producía.

4.2.5 Parámetros analíticos en situación postprandial

En la tabla 9 se exponen las diferencias en los niveles de los parámetros analíticos después de la SOG, comparando los sujetos con hipercolesterolemia primaria frente a los controles sanos. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados en t_4 .

En las figuras 3 a 10 se muestra una representación gráfica de los valores de glucosa, TG, leucocitos, eosinófilos, plaquetas, IgG, IgM e IgE total comparando los dos grupos en los dos tiempos de estudio (t_0 y t_4).

	Controles (n = 11)	Hipercolesterolemia primaria (n = 22)
Glucosa (mg/dL)	83,6 ± 4,3	88,0 ± 7,9
TG (mg/dL)	135,6 ± 63,4	172,4 ± 82,1
Leucocitos ($\times 10^9/L$)	6,0 ± 1,2	6,3 ± 1,1
Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	3,6 ± 0,9	3,8 ± 7,2
Linfocitos ($\times 10^9/L$)	1,9 ± 0,4	2,1 ± 0,5
Basófilos ($\times 10^9/L$)	0,031 ± 0,018	0,031 ± 0,023
Eosinófilos ($\times 10^9/L$)	0,128 ± 0,056	0,138 ± 0,079
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	229,8 ± 50,7	238,4 ± 58,0
IgG (mg/dL)	1001,5 ± 201,3	975,5 ± 169,0
IgM (mg/dL)	104,3 ± 33,3	125,7 ± 64,5
IgE total (UI/mL)	53,0 ± 63,2	51,3 ± 82,6

Tabla 9. Características analíticas a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* $p < 0,05$.

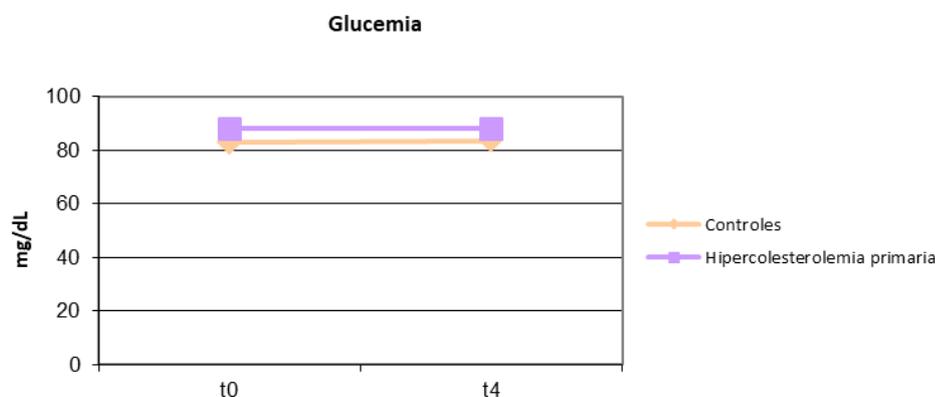


Figura 3. Comparación de los niveles de glucemia en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

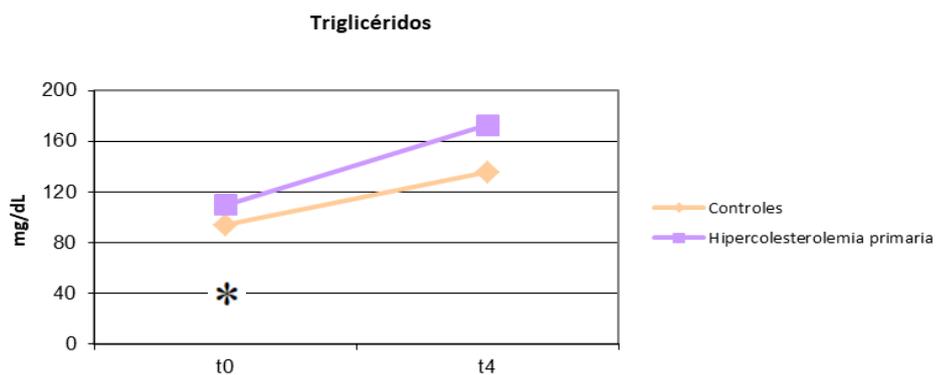


Figura 4. Comparación de los niveles de triglicéridos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.
* $p < 0,05$.

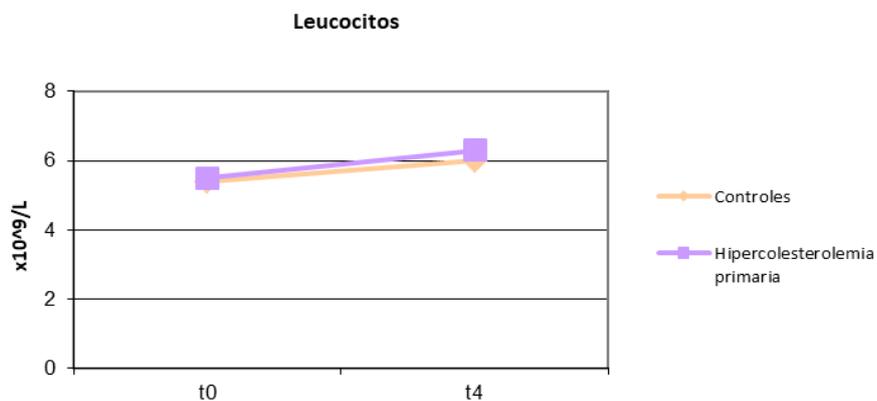


Figura 5. Comparación de los niveles de leucocitos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

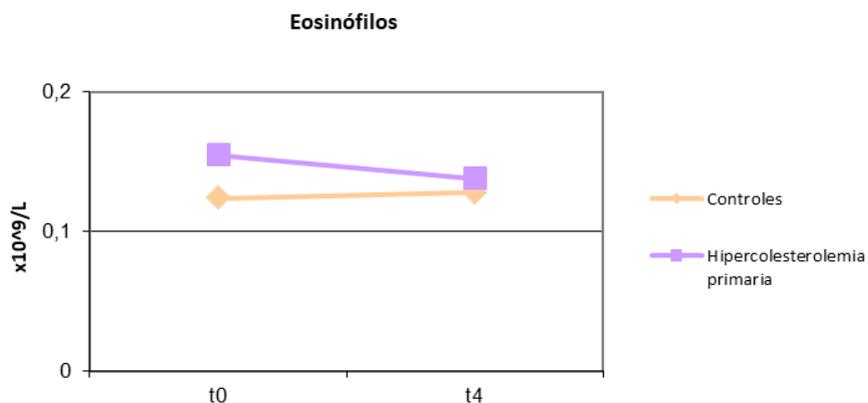


Figura 6. Comparación de los niveles de eosinófilos en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

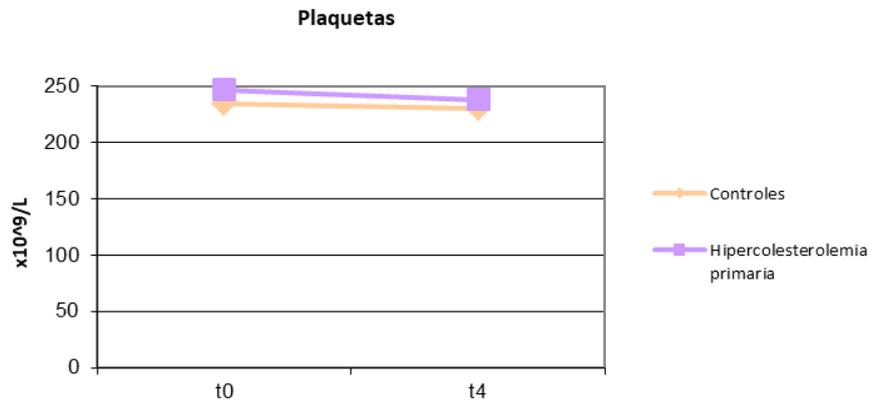


Figura 7. Comparación de los niveles de plaquetas en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

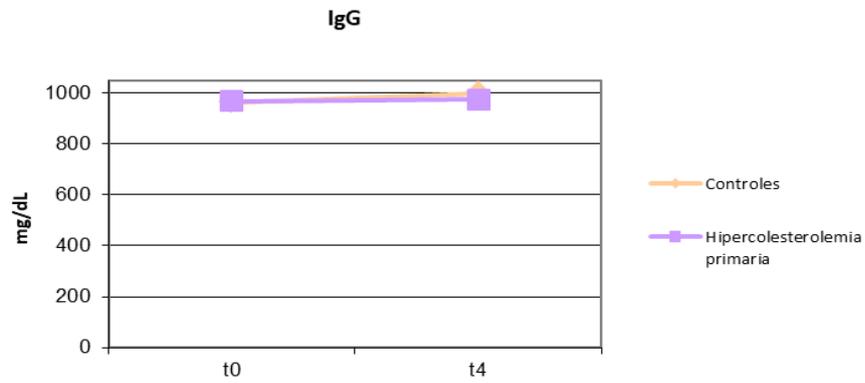


Figura 8. Comparación de los niveles de IgG en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

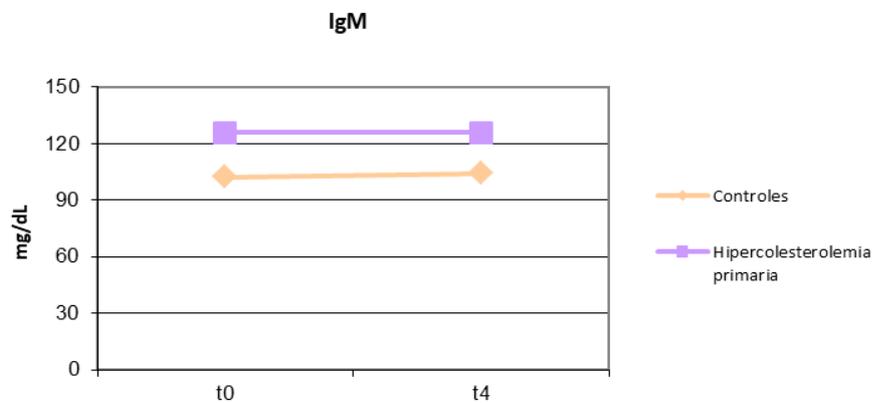


Figura 9. Comparación de los niveles de IgM en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

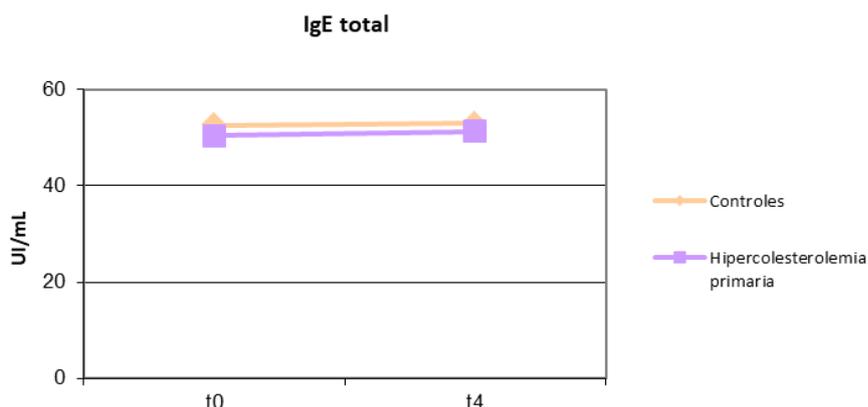


Figura 10. Comparación de los niveles de IgE total en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

4.2.6 Marcadores inflamatorios en situación postprandial

En la tabla 10 se muestran las diferencias en los niveles plasmáticos de las eotaxinas después de la SOG, comparando los sujetos con hipercolesterolemia primaria frente a los controles sanos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros. Los niveles de eotaxina-1 fueron mayores en los sujetos con hipercolesterolemia primaria, aunque sin llegar a alcanzar la significación estadística ($p = 0,051$).

En las figuras 11 a 13 se representan gráficamente los valores de eotaxina-1, eotaxina-2 y eotaxina 3, comparando los dos grupos en los dos tiempos de estudio.

	Controles (n = 10)	Hipercolesterolemia primaria (n = 22)
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)	456,4 ± 290,8	652,3 ± 205,6 ⁺
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)	278,7 ± 285,8	291,5 ± 252,0
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)	201,3 ± 79,3	359,8 ± 489,1

Tabla 10. Niveles de marcadores inflamatorios a las 4 horas tras la SOG en el grupo completo.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

⁺ $p = 0,051$.

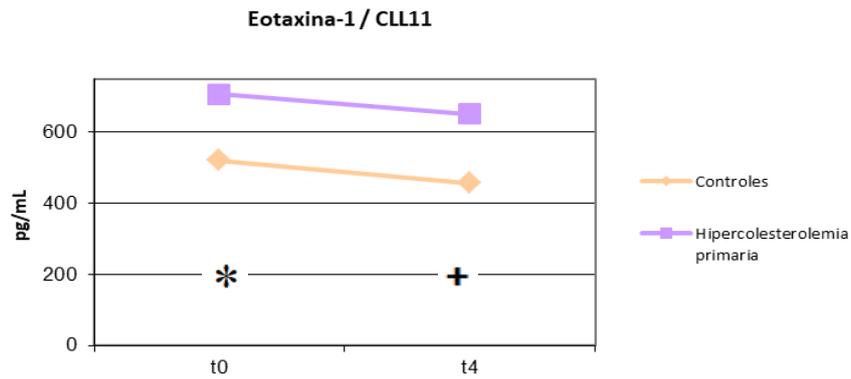


Figura 11. Comparación de los niveles de eotaxina-1 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

* $p < 0,05$, + $p = 0,051$

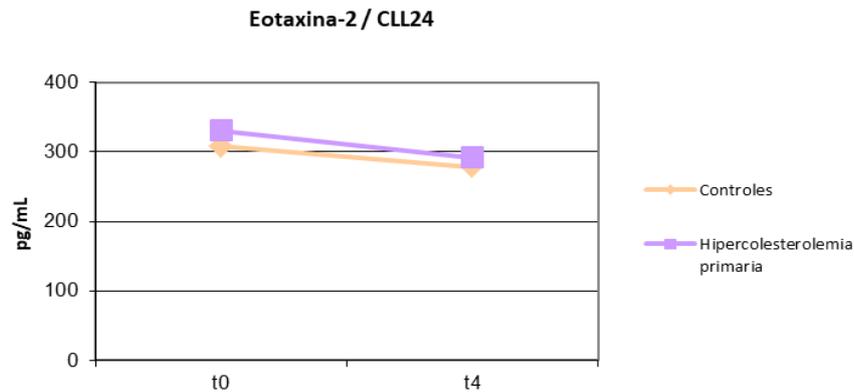


Figura 12. Comparación de los niveles de eotaxina-2 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

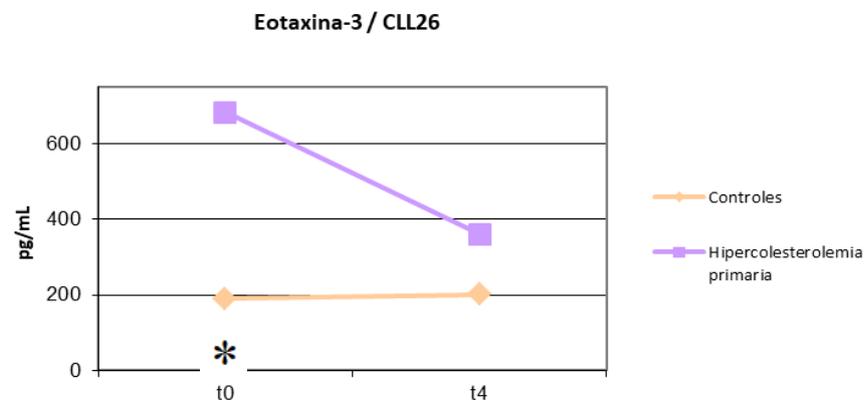


Figura 13. Comparación de los niveles de eotaxina-3 en controles sanos y pacientes con hipercolesterolemia primaria, en ayunas y a las 4 horas tras la SOG.

* $p < 0,05$.

Por lo tanto, detectamos que tanto en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria como en el grupo control se producen caídas de eotaxina-1 y eotaxina-2 en fase posprandial, y también en eotaxina-3 en el grupo de pacientes. Es interesante destacar que siendo diferentes y mayores todos los valores de las eotaxinas en situación de ayunas en el grupo de hipercolesterolemia (y estadísticamente significativos en el caso de eotaxina-1 y eotaxina-3), estas diferencias tienden a reducirse e igualarse en situación postprandial, sin encontrarse diferencias significativas en ninguna de las eotaxinas en t_4 , aunque en el caso de la eotaxina-1 queda cerca de la significación estadística (figura 11). Esto puede ser indicador del beneficio que obtiene el grupo de pacientes con hipercolesterolemia con la SOG.

4.2.7 Relación de los niveles de eotaxinas con los parámetros clínico-analíticos

Se presenta en la tabla 11 la relación entre el IMC, los niveles basales de colesterol total y c-LDL, y los niveles de eotaxinas de ambos grupos, tanto en situación de ayuno como en situación postprandial. Para ello se aplicó la correlación de Pearson a estos parámetros, expresada como coeficiente de correlación (r). Se observó correlación positiva significativa de intensidad moderada entre los niveles de colesterol total y c-LDL, y los niveles de eotaxina-1 en situación de ayuno. Asimismo, se observó correlación positiva significativa de intensidad moderada entre los niveles de c-LDL y los niveles de eotaxina-2 en situación de ayuno. También fue significativa la correlación positiva de intensidad moderada entre el IMC y los niveles de eotaxina-3 en situación de ayuno.

Al estudiar la correlación de las eotaxinas con otros parámetros clínico-analíticos, no se observó correlación con la edad, el perímetro de cintura o los niveles plasmáticos de TG y de glucemia (en t_0 y t_4).

	IMC	Colesterol total	c-LDL
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)			
t_0 (n = 42)	0,21	0,39*	0,43*
t_4 (n = 31)	0,15	0,26	0,32
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)			
t_0 (n = 42)	0,27	0,29	0,31*

t ₄ (n = 32)	0,34	0,15	0,18
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)			
t ₀ (n = 39)	0,34*	0,26	0,29
t ₄ (n = 29)	0,13	0,02	0,05

Tabla 11. Correlación de los marcadores inflamatorios con parámetros clínico-analíticos.

Los datos se expresan coeficiente de correlación (r).

* p < 0,05.

Estos datos son interesantes ya que nos indican la importante relación del eje inflamatorio estudiado con el metabolismo lipídico y por lo tanto con una diferente respuesta en los sujetos con hipercolesterolemia primaria, así como con el IMC en el caso de la eotaxina-3, pero no con otros parámetros.

4.3 Comparación de los parámetros estudiados en función del género

En las tablas que se exponen a continuación se muestra la comparación de los parámetros clínico-analíticos y los marcadores inflamatorios en función del género.

4.3.1 Parámetros clínicos y antropométricos en función del género

En la tabla 12 se muestran las diferencias en los parámetros clínicos y antropométricos en función del género. Los valores de perímetro de cintura fueron significativamente mayores en hombres comparado con las mujeres, como era esperable, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros.

	Hombres (n = 7)	Mujeres (n = 36)
Edad (años)	44,4 ± 13,3	49,8 ± 13,4
IMC (kg/m ²)	25,2 ± 2,6	25,7 ± 4,0
Perímetro de cintura (cm)	93,0 ± 8,3	84,1 ± 9,2*
PAS (mmHg)	124,0 ± 14,7	120,8 ± 14,4
PAD (mmHg)	72,1 ± 5,7	75,9 ± 11,7

Tabla 12. Características clínicas y antropométricas en función del género.

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

4.3.2 Parámetros analíticos en función del género

En la tabla 13 se presentan las diferencias en los valores analíticos determinados, en función del género, tanto en situación de ayuno como en situación postprandial. Los valores de c-HDL en el análisis basal fueron significativamente mayores en mujeres que en hombres, según lo esperado. Los niveles de neutrófilos en t_0 fueron significativamente mayores en hombres, y los niveles de IgM fueron significativamente mayores en mujeres, tanto en t_0 como en t_4 . No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros analíticos analizados en función del sexo.

	Hombres (n: $t_0 = 7$; $t_4 = 5$)	Mujeres (n: $t_0 = 36$; $t_4 = 28$)
Glucosa (mg/dL)		
t_0	87,1 ± 7,3	87,5 ± 8,0
t_4	87,0 ± 9,6	86,4 ± 6,8
CT (mg/dL) t_0	227,9 ± 43,9	237,6 ± 48,1
c-HDL (mg/dL) t_0	50,9 ± 8,7	67,6 ± 11,5*
c-LDL (mg/dL) t_0	161,3 ± 34,9	156,5 ± 38,6
TG (mg/dL)		
t_0	104,4 ± 32,4	94,0 ± 40,5
t_4	181,0 ± 100,4	156,4 ± 74,3
ApoB (mg/dL) t_0	113,3 ± 25,5	110,3 ± 28,0
Creatinina (mg/dL) t_0	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1
GOT (U/L) t_0	20,4 ± 4,9	22,6 ± 4,5
GPT (U/L) t_0	16,1 ± 2,7	18,9 ± 7,4
Leucocitos ($\times 10^9/L$)		
t_0	6,2 ± 0,6	5,5 ± 1,1
t_4	6,5 ± 0,8	6,2 ± 1,2
Neutrófilos ($\times 10^9/L$)		
t_0	3,5 ± 0,3	2,9 ± 0,8*
t_4	4,1 ± 0,4	3,7 ± 0,8
Linfocitos ($\times 10^9/L$)		
t_0	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,6
t_4	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,5
Basófilos ($\times 10^9/L$)		

	t ₀	0,047 ± 0,014	0,040 ± 0,022
	t ₄	0,028 ± 0,016	0,032 ± 0,023
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	t ₀	0,226 ± 0,182	0,134 ± 0,071
	t ₄	0,174 ± 0,078	0,130 ± 0,070
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	t ₀	220,6 ± 35,3	252,5 ± 55,8
	t ₄	193,8 ± 29,1	243,0 ± 55,5
IgG (mg/dL)	t ₀	1031,3 ± 137,1	954,9 ± 175,1
	t ₄	1066,6 ± 141,1	969,4 ± 181,4
IgM (mg/dL)	t ₀	70,7 ± 19,8	122,9 ± 54,8*
	t ₄	67,0 ± 20,8	127,8 ± 55,9*
IgE total (UI/mL)	t ₀	39,2 ± 43,4	48,2 ± 71,8
	t ₄	26,8 ± 28,1	56,3 ± 80,8

Tabla 13. Características analíticas en función del género, en situación de ayuno (t₀) y en situación postprandial (t₄).

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

4.3.3 Marcadores inflamatorios en función del género

En la tabla 14 se observan las diferencias en los niveles plasmáticos de las eotaxinas en función del género, tanto en situación de ayuno como en situación postprandial. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en ninguna de las eotaxinas.

	Hombres (n: t ₀ = 7; t ₄ = 5)	Mujeres (n: t ₀ = 36; t ₄ = 28)	
Eotaxina-1 / CCL11 (pg/mL)			
	t ₀	709,7 ± 268,8	603,4 ± 243,6
	t ₄	648,3 ± 208,3	590,6 ± 251,6
Eotaxina-2 / CCL24 (pg/mL)			
	t ₀	307,2 ± 160,1	297,1 ± 250,2
	t ₄	165,1 ± 88,9	305,0 ± 270,6
Eotaxina-3 / CCL26 (pg/mL)			
	t ₀	434,1 ± 408,9	495,6 ± 689,1

t ₄	271,2 ± 86,5	414,2 ± 623,7
----------------	--------------	---------------

Tabla 14. Niveles de parámetros inflamatorios en función del género, en situación de ayuno (t₀) y en situación postprandial (t₄).

Los datos se expresan como media ± desviación estándar.

* p < 0,05.

Los resultados obtenidos son indicativos de que el funcionamiento del eje inflamatorio estudiado es similar en ambos sexos, ya que no se encuentran diferencias significativas en ninguno de los valores de eotaxinas estudiados, por lo que en este caso el sexo no sería un factor influyente sobre el eje.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

La hipercolesterolemia primaria se asocia con el riesgo de desarrollar AE y con su complicación clínica, la ECV isquémica. La ECV isquémica se asocia a múltiples factores de riesgo, tanto ambientales como genéticos, siendo uno de los más importantes la aterogenicidad del c-LDL. Numerosos estudios previos han demostrado la asociación entre la hipercolesterolemia primaria y un bajo grado de inflamación sistémica, así como su correlación con algunos marcadores inflamatorios (21). Concretamente, en algunos estudios la eotaxina-1 y su receptor CCR3 se han detectado en el infiltrado inflamatorio de la placa, relacionándose con el riesgo de ECV (42).

En nuestra población actual, es frecuente la realización de múltiples comidas al día, por lo que a menudo pasamos la mayor parte del día en situación postprandial. Por ello, cada vez cobra más importancia el concepto de LPP, que representa el cambio de las partículas lipídicas que se produce tras la ingesta, suponiendo un acúmulo de lipoproteínas ricas en TG, así como el descenso del c-HDL y la formación de partículas de c-LDL pequeñas y densas. Esta LPP también se ha relacionado con la ECV isquémica, e incluso algunos pacientes con ECV prematura presentan niveles de lípidos normales en ayunas, pero disminución de su aclaramiento en situación postprandial. La ingesta de grasas puede modificar las propiedades de las partículas lipídicas circulantes y su interacción con el endotelio, modulando los niveles de diferentes citoquinas proinflamatorias y contribuyendo esto a la disfunción endotelial (21,40).

En el presente trabajo hemos estudiado la asociación entre la LPP y el eje inflamatorio CCL11/CCR3 en un modelo de alto riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia primaria, mediante la administración de una SOG constituida por un 75% de ácidos grasos insaturados y comparando con la misma situación en controles sanos. Hemos realizado un estudio comparativo de las variaciones existentes en situación de ayunas y postprandial, así como posibles diferencias en función del género.

5.1 Sobrecarga oral grasa y selección de pacientes

En nuestro estudio hemos utilizado una SOG, que consiste en la administración de un preparado estandarizado que permite estudiar la LPP, así como todos aquellos parámetros que se relacionan con la respuesta postprandial (en este caso, los marcadores inflamatorios).

Debe tenerse en cuenta que existe una amplia variabilidad individual en la respuesta a esta SOG, en la que intervienen múltiples factores genéticos, ambientales y fisiopatológicos. Por este motivo, también ha sido importante delimitar claramente los sujetos participantes en el estudio mediante los criterios de selección y exclusión. Se han seleccionado sujetos con hipercolesterolemia primaria, tomándolo como modelo de alto riesgo cardiovascular, y comparándolos con sujetos sanos. Así, los sujetos de inclusión definen la inclusión de los sujetos con hipercolesterolemia primaria, diferenciándolos de los controles sanos, según los valores basales de su perfil lipídico. Se han descartado aquellos sujetos con tratamiento hipolipemiante (o sin posibilidad de retirarlo durante al menos 4 semanas), puesto que estudios previos han mostrado un importante impacto en la respuesta inflamatoria tanto por el tratamiento con estatinas como con ezetimibe (51), y también por los nuevos inhibidores de la proteína PCSK9, que producen variaciones en los niveles plasmáticos de diferentes citoquinas inflamatorias (52). Por ello, se ha intentado evitar que este impacto interfiera en los resultados de nuestro trabajo.

En cuanto a los criterios de exclusión, se han excluido enfermedades concomitantes que también han sido relacionadas con cierto grado de inflamación sistémica, como la diabetes mellitus (53) o la enfermedad renal crónica (54). También se ha excluido el ejercicio físico intenso, ya que el ejercicio realizado en las 24 horas previas a una ingesta de grasa puede disminuir de manera significativa la LPP (hasta un 24-35%) (27), y además puede tener cierto efecto antiinflamatorio (55). Este descenso se relaciona entre otros factores con la intensidad del ejercicio realizado, siendo especialmente evidente en el ejercicio de alta intensidad (56). Por este motivo, se evitó que los sujetos incluidos en el estudio fueran participantes en programas de ejercicio físico intenso y también que les recomendó no realizar ejercicio físico en las

24 horas previas a la SOG. Durante las 4 horas transcurridas entre t_0 y t_4 se mantuvieron en reposo, permaneciendo preferiblemente en las instalaciones de la Unidad de Pruebas Funcionales de nuestro centro hospitalario.

Asimismo, se ha excluido a sujetos con variaciones de peso $> 10\%$ en los últimos 3 meses, ya que diversos estudios han evidenciado modificaciones significativas de la LPP tras períodos de restricción calórica, mostrando tras una pérdida de peso una reducción de la LPP (57) que podría afectar a los resultados de nuestro estudio, aunque en estudios recientes esto no se ha reflejado en mejoras de la función endotelial (58).

Otro motivo de exclusión ha sido el hábito tabáquico, ya que en personas fumadoras existe un aumento de TG postprandial mayor y más prolongado que en no fumadores, debido a un menor aclaramiento de los quilomicrones (37). Algo similar ocurre con el consumo de alcohol, que también puede producir modificaciones de la lipemia postprandial: el consumo de alcohol leve-moderado crónico parece incrementar la actividad de la LPL, aunque un consumo agudo inhibe la LPL, lo cual contribuye al aumento de la LPP (59,60).

Una posible limitación a tener en cuenta en nuestro estudio es que no se recogió el número de pacientes que rechazaron participar en el mismo a pesar de cumplir los criterios de inclusión y exclusión, ni los motivos de su no participación, por si pudieran originar sesgos.

En cuanto a la SOG, se ha utilizado un preparado comercial con un 75% de ácidos grasos insaturados en lugar de una comida mixta, empleada en otros estudios (61), ya que consideramos que para nuestro estudio es importante conocer la composición de esta sobrecarga y que su fórmula esté bien caracterizada, para minimizar la variabilidad entre los sujetos participantes. Esta fórmula no tiene ni proteínas ni hidratos de carbono, con la intención de evitar que otros macronutrientes interfirieran en la respuesta lipídica, ya que también podrían afectarle, así como algunos micronutrientes (62,63). No obstante, debemos tener en cuenta que esta sobrecarga

no actúa igual que la respuesta fisiológica habitual, al no intervenir el resto de nutrientes que estarían presentes en una dieta normal. También sería interesante estudiar los resultados en el caso de una comida mixta, de un preparado con mayor porcentaje de grasas saturadas, o comparando diferentes intervenciones como se ha hecho en otros estudios (64).

En cuanto a la cantidad de grasa empleada, la respuesta en la LPP ha demostrado ser dosis-dependiente, siendo evidente tras una ingesta de al menos 30 g de grasa y aumentando hasta una dosis de alrededor de 80 g (con un aumento progresivo de quilomicrones y TG) (63,65). Dosis superiores a 80 g de grasa exageran la respuesta en la elevación de TG, pero sin una relación dosis-dependiente clara (27). En nuestro estudio se ha decidido utilizar una dosis estandarizada de 25 g / m² de superficie corporal, que se encuentra encuadrada dentro de los límites comentados en todos los sujetos participantes. Además, la SOG se ha realizado tras un período de 12 horas de ayuno, ya que tras la ingesta de comidas consecutivas los niveles de TG pueden mantenerse por encima de las concentraciones habituales en ayunas hasta al menos 8 horas tras la ingesta (27).

5.2 Características clínicas, analíticas y parámetros inflamatorios en situación basal

Respecto a las características basales de los pacientes a estudio, los dos grupos a estudio difieren, en primer lugar, en dos características clínicas: el consumo de alcohol y los niveles de PAD. En el grupo de pacientes con hipercolesterolemia hubo 7 pacientes que refirieron un consumo ocasional de alcohol, mientras que en el grupo control no hubo ninguno. El consumo de pequeñas cantidades de alcohol (menos de 20 g al día) se ha relacionado en algunos estudios con un efecto positivo en los niveles de TG, reduciendo sus concentraciones y afectando al metabolismo lipídico (60), aunque en el caso de los sujetos participantes se referían a un consumo muy ocasional por lo que no creemos que esto haya tenido grandes repercusiones sobre los resultados de nuestro estudio.

Por otra parte, se objetivaron niveles más bajos de PAD en el grupo control que en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia. Los pacientes con hipertensión arterial han mostrado una lipemia postprandial más elevada que los individuos sanos de la misma edad y sexo, probablemente dada su relación habitual con la resistencia a la insulina e hiperinsulinemia (39). En nuestro estudio los niveles de PAD no llegaban en ningún caso a niveles en rango de hipertensión arterial, aunque es posible que esa discreta diferencia pueda influir en los resultados.

En cuanto a los parámetros analíticos, se encontraron diferencias en los niveles plasmáticos de colesterol total, c-LDL y TG, de acuerdo con los criterios de inclusión correspondientes al grupo de casos o al grupo de controles. Asimismo, también existen diferencias en los niveles de ApoB. La concentración total de ApoB viene definida por la suma de ApoB48 más ApoB100, sobre todo por ApoB100 ya que se encuentra en concentraciones mucho mayores (la relación ApoB48:ApoB100 en el plasma es de alrededor de 1:1000). Las diferencias entre ambos grupos se explican porque la molécula de ApoB es componente de todas las partículas aterogénicas (c-LDL, c-IDL, c-VLDL y quilomicrones), reflejando el número total de partículas aterogénicas presentes en la sangre y por lo tanto sus niveles son mayores en los sujetos con hipercolesterolemia. De hecho, los niveles de ApoB se han considerado por muchos autores como un buen marcador del riesgo cardiovascular (66,67). En el resto de parámetros analíticos medidos no se encontraron diferencias.

En el análisis de los parámetros inflamatorios en situación basal se objetivaron valores plasmáticos más elevados de eotaxina-1 y de eotaxina-3 en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia. Los niveles de eotaxina-2 también fueron más elevados, aunque sin llegar a la significación estadística. Esto está de acuerdo con otros trabajos publicados previamente, en los que se encuentra una sobreexpresión de eotaxina-1 en la placa de ateroma (46), así como con otros estudios realizados por nuestro grupo de investigación (no publicados).

Se ha propuesto que el mecanismo por el que el eje CCL11/CCR3 afecta a la placa de ateroma es mediante su intervención en la migración de las células musculares lisas

de la capa media hacia la íntima, como parte del proceso aterosclerótico (45). La eotaxina-1, junto con otras quimioquinas proinflamatorias, podría promover esta migración induciendo a las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) que intervienen en la formación de la placa de AE (68). A nivel clínico, esto podría explicar el aumento de niveles circulantes de eotaxina-1 encontrado en varios estudios en sujetos con ECV establecida, concretamente en enfermedad coronaria (42,69), consecuencia del mayor desarrollo de la placa de ateroma a nivel vascular. También se ha encontrado una mayor expresión de eotaxina en pacientes con válvula aórtica estenótica y calcificada, siendo esto inhibido con el tratamiento hipolipemiante con estatinas (70).

Respecto a la eotaxina-2 y eotaxina-3, apenas existe bibliografía previa analizando esta relación, aunque al ser también agonistas del receptor CCR3 guardan una estrecha relación con este eje inflamatorio y nuestro estudio también demuestra la existencia de una asociación con los sujetos con hipercolesterolemia, por lo que podría ser interesante ampliar su estudio.

En la práctica clínica, no existen marcadores plasmáticos de AE que sean lo suficientemente sensibles y específicos, y a menudo se diagnostica una vez producido el primer evento cardiovascular (que en ocasiones llega a ser fatal). Creemos que nuestros hallazgos pueden tener importantes repercusiones clínicas, de manera que la mejor comprensión de la importancia de las eotaxinas en el proceso arteriosclerótico podría hacernos plantear el uso de su medición como marcador precoz de AE. Como proponen algunos autores, es posible que el uso de un solo marcador no sea suficiente, sino que sea necesaria la suma de diferentes marcadores inflamatorios (71).

5.3 Lipemia postprandial y parámetros de inflamación

5.3.1 Efectos de la SOG sobre los parámetros analizados

En nuestro estudio, hemos analizado el efecto de una SOG rica en ácidos insaturados sobre un grupo de pacientes con hipercolesterolemia y un grupo control,

observando las variaciones en los diferentes parámetros y especialmente las modificaciones en el eje inflamatorio CCL11/CCR3.

En primer lugar, cabe destacar tras la SOG el aumento de los niveles de TG postprandiales que se produce, significativo tanto en el grupo control como en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria, siendo de mayor magnitud en el grupo de pacientes aunque sin encontrarse diferencias significativas en los niveles entre ambos grupos. Esto se ha analizado en diferentes estudios previos, encontrando en algunos de ellos una respuesta aumentada en la trigliceridemia postprandial en sujetos con hipercolesterolemia frente a sujetos normolipidémicos (72,73), aunque sin diferencias en otros (74,75). Varios autores han propuesto que estas diferencias podrían deberse a que los sujetos con hipercolesterolemia presentan defectos en el aclaramiento de los quilomicrones en situación postprandial, aunque también existe cierta controversia respecto a estos hallazgos (76–78).

Centrándonos en el estudio de las eotaxinas objetivo de este trabajo, tras la SOG se produce un descenso significativo de los niveles plasmáticos de eotaxina-1, tanto en el grupo completo como al analizar separadamente los sujetos con hipercolesterolemia primaria y los sujetos sanos. De la misma manera, se produce un descenso significativo en todos los casos de eotaxina-2, aunque de eotaxina-3 únicamente en el grupo de pacientes con hipercolesterolemia primaria (pero no en el grupo control). Esto confirma nuestra hipótesis de que existen modificaciones de este eje inflamatorio en situación postprandial, de manera que el efecto de la SOG no es una activación del eje sino al contrario, una inhibición. Este efecto va en la línea de otros trabajos de nuestro grupo, donde se objetiva que una SOG de ácidos grasos insaturados produce en pacientes con hipercolesterolemia familiar un descenso de otras quimiocinas a nivel postprandial, aunque no se había evaluado el eje CCL11/CCR3 (21,79). Esto nos hace pensar en un posible efecto beneficioso de los ácidos grasos insaturados sobre la respuesta inflamatoria, que se ha demostrado asimismo en trabajos realizados con dietas enriquecidas en ácidos grasos insaturados procedentes de nueces o aceite de oliva (80,81).

Comparando los valores de eotaxinas en situación postprandial, no llegan a haber diferencias significativas entre ambos grupos de estudio, aunque tanto los niveles de eotaxina-1, como de eotaxina-2 y eotaxina-3 son mayores en los sujetos con hipercolesterolemia. Los valores de eotaxina-1 quedan en este caso cerca de la significación estadística ($p < 0,051$) pero no nos permiten sacar conclusiones. Esto apoya nuestra teoría de que una SOG rica en ácidos grasos insaturados es altamente beneficiosa en estos pacientes, puesto que diferencias que en situación de ayunas sí eran significativas entre pacientes y controles sanos, tras la SOG dejan de serlo.

No obstante, hay que tener en cuenta como limitación de nuestro estudio que en estos resultados puede influir el bajo número de sujetos participantes en nuestro estudio, sobre todo en situación postprandial ya que entre el grupo de pacientes control únicamente 11 sujetos estuvieron dispuestos a someterse a la SOG de 4 horas de duración y en el resto de ellos solo se tomaron muestras en situación basal. Además, en algunos de ellos algunas de las mediciones específicas de los parámetros inflamatorios no pudieron realizarse por limitaciones técnicas con las muestras sanguíneas extraídas (por ejemplo, la eotaxina-3 solo fue medida en situación postprandial en 7 de los pacientes del grupo control). Entre los pacientes con hipercolesterolemia, en cambio, todos ellos participaron en la SOG, probablemente debido a que dada su condición de enfermedad estuvieron más motivados a colaborar en la investigación.

Es posible que si hubiéramos utilizado un tipo de SOG diferente, más rica en ácidos grasos saturados, no se objetivara este mismo descenso en las eotaxinas y esto podría hacernos reforzar la idea del beneficio de los ácidos grasos insaturados, aunque no disponemos de suficientes datos para evaluar esta teoría ya que no hemos realizado el estudio comparativo. Sí que se han realizado algunos estudios previos que apoyan nuestra teoría, puesto que comparando el efecto de ingestas con diferente distribución de ácidos grasos se ha mostrado un aumento de diferentes parámetros inflamatorios mayor tras el consumo de ingestas ricas en ácidos grasos saturados (81–84), pero no se ha estudiado el comportamiento del eje de las eotaxinas. Sería interesante realizar este estudio en futuras investigaciones.

Otra limitación de nuestro estudio es la duración de la SOG, ya que en algunos trabajos se establece que si el tiempo transcurrido es menor de 8 horas puede no tener la sensibilidad necesaria para detectar diferencias (36), y tal vez si hubiéramos prolongado este tiempo podríamos haber tenido otros resultados. Además, otra limitación es que se trata de una intervención puntual, pero no es útil para extraer resultados de lo que ocurriría con una ingesta grasa realizada más de un día o incluso con una ingesta crónica, que se aproximaría más a la práctica clínica real. En un estudio realizado con desayunos altos en grasa durante 2 días consecutivos no se encontraron diferencias en los niveles de eotaxina (85), pero no disponemos de estudios que evalúen las diferencias en el eje de las eotaxinas con una ingesta crónica a largo plazo. Sí que se ha demostrado que una dieta baja en ácidos grasos saturados de manera mantenida en niños hasta su progresión a la edad adulta se asoció a un perfil de distensibilidad arterial y grosor íntima-media aórtico más favorable (86), por lo que es probable que esto también se refleje en los marcadores inflamatorios.

Estudiando la correlación con otros parámetros clínico-analíticos, se objetiva una relación directa positiva de los niveles colesterol total y c-LDL con la eotaxina-1 en situación basal, pero no hay relación con otros parámetros como la edad, el IMC, el perímetro de cintura, los niveles plasmáticos de TG o la glucemia. Asimismo, se ha detectado una correlación positiva entre los niveles de eotaxina-2 y c-LDL en ayunas, así como entre la eotaxina-3 basal y el IMC. Estas eotaxinas tampoco se han relacionado con el resto de parámetros analizados. La relación de la eotaxina-3 con el IMC es congruente con otros estudios en los que también se ha relacionado a algunas quimiocinas tanto con el desarrollo de obesidad (87) como con la pérdida de peso (88). La relación de las eotaxinas 1 y 2 con el perfil lipídico refuerza la hipótesis de la importancia de la relación de este eje inflamatorio con la hipercolesterolemia y la placa de ateroma.

Creemos que la clara asociación independientemente de otros factores del eje inflamatorio estudiado con una enfermedad tan prevalente como la hipercolesterolemia, y sus modificaciones observadas en situación postprandial, podrían tener importantes repercusiones clínicas en estos pacientes. La mejor

comprensión de su funcionamiento podría permitirnos adecuar las intervenciones dietéticas para lograr un perfil inflamatorio más favorable, e incluso proporcionarnos nuevas herramientas para utilizar el propio eje como base para la síntesis de nuevas terapias farmacológicas de alta eficacia en estos pacientes, dirigidas más específicamente al objetivo diana de retrasar el proceso de AE, siempre con el fin último de prevenir eventos cardiovasculares. Esto ya se ha estudiado con otras quimioquinas aunque aún sin beneficios claros (89), pero el estudio de las eotaxinas podría abrirnos una nueva puerta de trabajo, tal vez estudiadas conjuntamente con otras quimioquinas.

5.3.2 Efectos de la SOG en función del género

Diferentes estudios previos han mostrado una respuesta diferencial de la lipemia postprandial en función del género, mostrando un aumento de los niveles de TG plasmáticos en situación postprandial mayor en hombres que en mujeres (90,91), así como un perfil de niveles de triglicéridos mayor a lo largo de todo el día (92), aunque también se ha propuesto que esta diferencia podría ser explicada por la diferente distribución de tejido adiposo visceral según el género, de manera que las mujeres tienen un mayor aclaramiento de la grasa (37).

Dadas estas diferencias, en nuestro trabajo hemos analizado la respuesta de la SOG en función del género, para objetivar si las diferencias son trasladables al funcionamiento del eje CCL11/CCR3. Entre todos los sujetos participantes ha habido 7 hombres y 36 mujeres, por lo que en el análisis de los datos debe tenerse en cuenta el pequeño tamaño muestral sobre todo en el grupo de hombres. No se encuentran diferencias en sus características clínicas basales salvo en el perímetro de cintura, que ha sido mayor en hombres de acuerdo a las diferencias ya bien conocidas del mayor volumen abdominal en este género (93).

A nivel analítico, se encuentran también como es esperable diferencias en los niveles basales de c-HDL, mayores en mujeres. Sin embargo, no hallamos diferencias significativas en los niveles de TG postprandiales como sí ocurría en otros estudios (90,91). No obstante, dichos estudios no se realizaron con una SOG estandarizada

con las mismas características que la nuestra sino con diferentes protocolos de comidas de prueba. Además, existen diferencias en los niveles basales de neutrófilos (mayores en hombres) y en los niveles de IgM tanto en situación basal como postprandial, que son mayores en mujeres. Estas diferencias en los valores de IgM ya se habían detectado previamente en algunas poblaciones, aunque la relación no es clara (94).

En cuanto al grado de estrés oxidativo en situación postprandial, en diversos estudios se ha demostrado un estrés oxidativo menor en mujeres (95,96), que se ha relacionado con la mayor longevidad y menor riesgo de ECV en mujeres, pudiendo explicar las diferencias en el desarrollo de arteriosclerosis entre ambos géneros. También en estudios realizados en ratones, se ha mostrado un mayor beneficio de dietas ricas en aceite de oliva en hembras (97). Se ha propuesto que las diferencias encontradas entre ambos sexos pueden deberse al efecto antioxidante de los estrógenos, aunque al analizar la respuesta en diferentes momentos del ciclo menstrual no se ha visto ninguna diferencia (98). Otros autores proponen que los estrógenos solo sean una explicación parcial y se trate en cambio de una explicación multifactorial, pudiendo influir otros posibles factores como niveles de enzimas antioxidantes, NADPH oxidasa o angiotensina II (99).

En nuestro estudio, no se ha tenido en cuenta el momento del ciclo menstrual en las mujeres ni se han determinado los niveles de estrógenos, así como tampoco se ha diferenciado entre mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas, pero con los datos disponibles no se detectan diferencias significativas en los niveles de eotaxinas entre hombres y mujeres ni en ayunas ni 4 horas tras la SOG. Estos resultados son similares a los de trabajos previos en los que tampoco se detectan diferencias en los niveles de eotaxinas basales en relación al género (48), aunque en un estudio realizado en pacientes con enfermedad coronaria sí se encontró mayor expresión de eotaxina en hombres (69).

En base a los resultados y a la bibliografía revisada, y teniendo en cuenta todos los factores comentados y las limitaciones de nuestro trabajo, podemos concluir que

es indudable la relación del eje inflamatorio de las eotaxinas con la hipercolesterolemia y el proceso arteriosclerótico, así como la existencia de modificaciones en el eje tras una SOG rica en ácidos grasos insaturados, por lo que por sus posibles implicaciones clínicas en patologías tan prevalentes como la hipercolesterolemia y la ECV creemos que estos datos deben servir como punto de partida para futuros estudios.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

En nuestro estudio, tras el análisis y discusión de los resultados y de acuerdo a nuestros objetivos iniciales, podemos establecer las siguientes conclusiones:

- 1) En los sujetos con hipercolesterolemia primaria, en situación de LPP existe una modificación del eje inflamatorio relacionado con los niveles de eotaxinas, con disminución estadísticamente significativa de los valores de eotaxina 1, 2 y 3. Estos hallazgos indicarían un posible efecto beneficioso postprandial tras el consumo de ácidos grasos insaturados.
- 2) Los sujetos con hipercolesterolemia primaria, en situación de ayuno, presentan mayores valores de eotaxinas que los sujetos sanos, indicando una mayor activación del eje inflamatorio CCL11/CCR3 en los sujetos con hipercolesterolemia.
- 3) Al someter a ambos grupos de estudio a una situación de LPP con aporte de una SOG rica en ácidos grasos insaturados, hubo una reducción estadísticamente significativa de los niveles de eotaxina-1 y eotaxina-2 en ambos grupos, así como de eotaxina-3 en el grupo de sujetos con hipercolesterolemia primaria (no en el grupo control).
- 4) No encontramos efecto del género en la actividad del eje CCL11/CCR3, ni en situación de ayunas ni en fase postprandial.

Podemos confirmar la hipótesis (H0), estableciendo la tesis que en la hipercolesterolemia primaria, modelo de alto riesgo cardiovascular, la elevación de la LPP inducida por ácidos grasos insaturados reduce la actividad del eje inflamatorio relacionado con las eotaxinas (eotaxina-1/CCL11, eotaxina-2/CCL24 y eotaxina-3/CCL26), principales ligandos del receptor CCR3, mecanismo que podría ser beneficioso en el desarrollo de la placa de AE.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. Guía ESC 2016 sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69(10):e1-87.
2. INE. Instituto Nacional de Estadística [Internet]. 2019 [citado 27 de marzo de 2020]. Disponible en: <http://www.ine.es>
3. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidemias. *Rev Esp Cardiol*. 2017;70(2):115.e1-e64.
4. Badimon L, Vilahur G. Enfermedad aterotrombótica coronaria: Avances en el tratamiento antiplaquetario. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(5):501-13.
5. 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.
6. Loupy A, Vernerey D, Viglietti D, Aubert O, Duong Van Huyen JP, Empana JP, et al. Determinants and outcomes of accelerated arteriosclerosis: Major impact of circulating antibodies. *Circ Res*. 2015;117(5):470-82.
7. Ravnskov U, de Lorgeril M, Diamond DM, Hama R, Hamazaki T, Hammarskjöld B, et al. LDL-C does not cause cardiovascular disease: a comprehensive review of the current literature. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2018;11(10):959-70.
8. 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;2015:718329.
9. Catapano AL, Pirillo A, Norata GD. Vascular inflammation and low-density lipoproteins: is cholesterol the link? A lesson from the clinical trials. *Br J Pharmacol*. 2017;174(22):3973-85.
10. Medrano MJ, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodríguez M. Factores de riesgo cardiovascular en la población española: metaanálisis de estudios transversales. *Med Clin (Barc)*. 2005;124(16):606-12.
11. Cordero A, Fácila L. Situación actual de la dislipemia en España: La visión del

- cardiólogo. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2015;15(S1):2-7.
12. Vegazo O, Banegas JR, Civeira F, Serrano Aisa PL, Javier Jiménez F, Luengo E. Prevalencia de dislipemia en las consultas ambulatorias del Sistema Nacional de Salud: Estudio HISPALIPID. *Med Clin (Barc).* 2006;127(9):331-4.
 13. 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 y Nutr.* 2004;12(1):7-41.
 14. 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.
 15. Singh S, Bittner V. Familial hypercholesterolemia—Epidemiology, diagnosis, and screening. *Curr Atheroscler Rep.* 2015;17(2):482.
 16. Bouhairie VE, Goldberg AC. Familial hypercholesterolemia. *Cardiol Clin.* 2015;33(2):169-79.
 17. Zamora A, Masana L, Comas-Cufí M, Vila À, Plana N, García-Gil M, et al. Familial hypercholesterolemia in a european mediterranean population—Prevalence and clinical data from 2.5 million primary care patients. *J Clin Lipidol.* 2017;11(4):1013-22.
 18. Cano-Rodríguez I, Salvador J, Jódar Gimeno E, Corcoy R, Mauricio D, Ballesteros-Pomar MD, et al. Manual de Endocrinología y Nutrición [Internet]. [citado 27 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.seen.es/manualSeen/manual.aspx>
 19. Mytilinaiou M, Kyrou I, Khan M, Grammatopoulos DK, Randeve HS. Familial hypercholesterolemia: New horizons for diagnosis and effective management. *Front Pharmacol.* 2018;9:707.
 20. Furgione A, Sánchez D, Scott G, Luti Y, Arraiz N, Bermúdez-Pirela V, et al. Dislipidemias primarias como factor de riesgo para la enfermedad coronaria. *Rev Latinoam Hipertens.* 2009;4(1):18-25.
 21. 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.

22. Charo IF, Ransohoff RM. Mechanisms of disease: The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med*. 2006;354(6):610-21.
23. Willems LI, Ijzerman AP. Small molecule antagonists for chemokine CCR3 receptors. *Med Res Rev*. 2010;30(5):778-817.
24. Collado A, Marques P, Domingo E, Perello E, González-Navarro H, Martínez-Hervás S, et al. Novel immune features of the systemic inflammation associated with primary hypercholesterolemia: Changes in cytokine/chemokine profile, increased platelet and leukocyte activation. *J Clin Med*. 2018;8(1):18.
25. Kats D, Sharrett AR, Ginsberg HN, Nambi V, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, et al. Postprandial lipemia and the risk of coronary heart disease and stroke: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2017;5(1):1-6.
26. Wallace JP, Johnson B, Padilla J, Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: A review. *Int J Clin Pract*. 2010;64(3):389-403.
27. López-Miranda J, Williams C, Larion D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 2007;98(3):458-73.
28. Levy B, Koeppen B, Stanton B. Metabolismo corporal total. En: *Fisiología*. 4^a. Madrid; 2006. p. 601-16.
29. Wang DD. Dietary n-6 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: Epidemiologic evidence. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2018;135:5-9.
30. Øyri LKL, Narverud I, Bogsrud MP, Hansson P, Leder L, Byfuglien MG, et al. Postprandial changes in gene expression of cholesterol influx and efflux mediators after intake of SFA compared with n-6 PUFA in subjects with and without familial hypercholesterolaemia: Secondary outcomes of a randomised controlled trial. *J Nutr Sci*. 2019;8:e27.
31. Dias CB, Amigo N, Wood LG, Correig X, Garg ML. Effect of diets rich in either saturated fat or n-6 polyunsaturated fatty acids and supplemented with long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on plasma lipoprotein profiles. *Eur J Clin Nutr*. 2017;71(11):1297-302.
32. Hamley S. The effect of replacing saturated fat with mostly n-6 polyunsaturated fat on coronary heart disease: a meta-analysis of randomised controlled trials.

- Nutr J. 2017;16(1):1-16.
33. Chan DC, Watts GF, Mori TA, Barrett PHR, Redgrave TG, Beilin LJ. Randomized controlled trial of the effect of n-3 fatty acid supplementation on the metabolism of apolipoprotein B-100 and chylomicron remnants in men with visceral obesity. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(2):300-7.
 34. 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.
 35. Yang ZH, Amar M, Sorokin A V., Troendle J, Courville AB, Sampson M, et al. Supplementation with saury oil, a fish oil high in omega-11 monounsaturated fatty acids, improves plasma lipids in healthy subjects. *J Clin Lipidol.* 2020;14:53-65.
 36. Monfort-Pires M, Delgado-Lista J, Gómez-Delgado F, López-Miranda J, Pérez-Martinez P, Ferreira SRG. Impact of the content of fatty acids of oral fat tolerance tests on postprandial triglyceridemia: Systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2016;8(9):580.
 37. Dias CB, Moughan PJ, Wood LG, Singh H, Garg ML. Postprandial lipemia: Factoring in lipemic response for ranking foods for their healthiness. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):1-11.
 38. Zilvermist DB. Atherogenesis: A postprandial phenomenon. *Circulation.* 1979;60:473-85.
 39. Masuda D, Yamashita S. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24(2):95-109.
 40. Alipour A, Elte JWF, Van Zaanen HCT, Rietveld AP, Castro Cabezas M. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(3):466-9.
 41. Teeman CS, Kurti SP, Cull BJ, Emerson SR, Haub MD, Rosenkranz SK. Postprandial lipemic and inflammatory responses to high-fat meals: A review of the roles of acute and chronic exercise. *Nutr Metab.* 2016;13(1):1-14.
 42. Emanuele E, Falcone C, D'Angelo A, Minoretta P, Buzzi MP, Bertona M, et al. Association of plasma eotaxin levels with the presence and extent of angiographic coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2006;186(1):140-5.

43. Forsythe P, Befus AD. CCR3: A key to mast cell phenotypic and functional diversity? *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;28(4):405-9.
44. Millard CJ, Ludeman JP, Canals M, Bridgford JL, Hinds MG, Clayton DJ, et al. Structural basis of receptor sulfotyrosine recognition by a CC chemokine: The n-terminal region of CCR3 bound to CCL11/eotaxin-1. *Structure.* 2014;22(11):1571-81.
45. Kodali RB, Kim WJH, Galaria II, Miller C, Schechter AD, Lira SA, et al. CCL11 (Eotaxin) induces CCR3-dependent smooth muscle cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(7):1211-6.
46. Haley KJ, Lilly CM, Yang J, Feng Y, Kennedy SP, Turi TG, et al. Overexpression of eotaxin and the CCR3 receptor in human atherosclerosis. *Circulation.* 2000;102:2185-9.
47. 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.
48. Mosedale DE, Smith DJ, Aitken S, Schofield PM, Clarke SC, McNab D, et al. Circulating levels of MCP-1 and eotaxin are not associated with presence of atherosclerosis or previous myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2005;183(2):268-74.
49. 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 Interf Cytokine Res.* 2010;30(5):339-47.
50. Spinas E, Kritas S, Saggini A, Mobili A, Caraffa A, Antinolfi P, et al. Role of mast cells in atherosclerosis: A classical inflammatory disease. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014;27(4):517-21.
51. Wu NQ, Guo YL, Zhu CG, Gao Y, Zhao X, Sun D, et al. Comparison of statin plus ezetimibe with double-dose statin on lipid profiles and inflammation markers. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1):265.
52. Momtazi-Borojeni AA, Sabouri-Rad S, Gotto AM, Pirro M, Banach M, Awan Z, et al. PCSK9 and inflammation: A review of experimental and clinical evidence. *Eur Hear J - Cardiovasc Pharmacother.* 2019;5(4):237-45.

53. Lontchi-Yimagou E, Sobngwi E, Matsha TE, Kengne AP. Diabetes mellitus and inflammation. *Curr Diab Rep.* 2013;13(3):435-44.
54. Akchurin OM, Kaskel F. Update on inflammation in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2015;39(1-3):84-92.
55. Fuller KNZ, Summers CM, Valentine RJ. Effect of a single bout of aerobic exercise on high-fat meal-induced inflammation. *Metabolism.* 2017;71:144-52.
56. Ramírez-Vélez R, Correa-Rodríguez M, Tordecilla-Sanders A, Aya-Aldana V, Izquierdo M, Correa-Bautista JE, et al. Exercise and postprandial lipemia: Effects on vascular health in inactive adults. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1):1-11.
57. Antoni R, Johnston KL, Collins AL, Robertson MD. Intermittent v. continuous energy restriction: Differential effects on postprandial glucose and lipid metabolism following matched weight loss in overweight/obese participants. *Br J Nutr.* 2018;119(5):507-16.
58. Joris PJ, Plat J, Kusters YHAM, Houben AJHM, Stehouwer CDA, Schalkwijk CG, et al. Effects of diet-induced weight loss on postprandial vascular function after consumption of a mixed meal: Results of a randomized controlled trial with abdominally obese men. *Clin Nutr.* 2020;[Epub ahead of print].
59. Fielding BA, Michelle Grady GR, 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.
60. Kovář J, Zemánková K. Moderate alcohol consumption and triglyceridemia. *Physiol Res.* 2015;64:S371-5.
61. Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Abdo T, Tripathy D, Chaudhuri A, et al. Increase in intranuclear nuclear factor κ B and decrease in inhibitor κ B in mononuclear cells after a mixed meal: Evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(4):682-90.
62. 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. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(3):510-5.
63. 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;2012:947417.
64. Derosa G, D'Angelo A, Romano D, Maffioli P. Response to an oral fat load and effects on lipid profile, glycemia and high-sensitivity C-reactive protein after soybean extract consumption. *Arch Med Sci*. 2018;14(4):760-5.
 65. 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.
 66. Díaz JA, Castro M, Liem A. Utilidad de la medición de la apolipoproteína B en la práctica clínica. *Clínica e Investig en Arterioscler*. 2005;17(3):142-6.
 67. Benozzi S, Coniglio RI. Atherosclerosis: biomarcadores plasmáticos emergentes. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2010;44(3):317-28.
 68. 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.
 69. Kaehler J, Tuleweit A, Steven D, Krempl T, Haar A, Carstensen M, et al. Association between eotaxin (CCL11), C-reactive protein, and antimicrobial antibodies in patients undergoing coronary angioplasty. *J Investig Med*. 2006;54(8):446-54.
 70. Anger T, Pohle FK, Kandler L, Barthel T, Ensminger SM, Fischlein T, et al. VAP-1, Eotaxin3 and MIG as potential atherosclerotic triggers of severe calcified and stenotic human aortic valves: Effects of statins. *Exp Mol Pathol*. 2007;83(3):435-42.
 71. 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.
 72. Mamo JCL, Smith D, Yu KCW, Kawaguchi A, Harada-Shiba M, Yamamura T, et al. Accumulation of chylomicron remnants in homozygous subjects with familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*. 1998;28(5):379-84.
 73. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pilatis ND, Iraklianiou S, Hoursalass IS, Liberi S, et al. Heterozygote men with familial hypercholesterolaemia may have an abnormal triglyceride response post-prandially. Evidence for another predictor

- of vascular risk in familial hypercholesterolaemia. *Int J Clin Pract.* 2005;59(3):311-7.
74. Rubinsztein DC, Cohen JC, Berger GM, Van Der Westhuyzen DR, Coetzee GA, Gevers W. Chylomicron remnant clearance from the plasma is normal in familial hypercholesterolemic homozygotes with defined receptor defects. *J Clin Invest.* 1990;86(4):1306-12.
 75. Oyri LKL, Hansson P, Bogsrud MP, Narverud I, Florholmen G, Leder L, et al. Delayed postprandial TAG peak after intake of SFA compared with PUFA in subjects with and without familial hypercholesterolaemia: A randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 2018;119(10):1142-50.
 76. Watts GF, Barrett PHR, Marais AD, Dane-Stewart CA, Martins IJ, Dimmitt SB, et al. Chylomicron remnant metabolism in familial hypercholesterolaemia studied with a stable isotope breath test. *Atherosclerosis.* 2001;157(2):519-23.
 77. Kolovou GD, Kostakou PM, Anagnostopoulou KK. Familial hypercholesterolemia and triglyceride metabolism. *Int J Cardiol.* 2011;147(3):349-58.
 78. Carneiro MM, Miname MH, Gagliardi AC, Pereira C, Pereira AC, Krieger JE, et al. The removal from plasma of chylomicrons and remnants is reduced in heterozygous familial hypercholesterolemia subjects with identified LDL receptor mutations: Study with artificial emulsions. *Atherosclerosis.* 2012;221(1):268-74.
 79. Pedro T, Martínez-Hervas S, Tormo C, García-García AB, Sáez-Tormo G, Ascaso JF, et al. Oxidative stress and antioxidant enzyme values in lymphomonocytes after an oral unsaturated fat load test in familial hypercholesterolemic subjects. *Transl Res.* 2013;161(1):50-6.
 80. 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.
 81. 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):70-6.
 82. Pérez-Martínez P, Ordovás JM, García-Ríos A, Delgado-Lista J, Delgado-Casao N,

- Cruz-Teno C, et al. Consumption of diets with different type of fat influences triacylglycerols-rich lipoproteins particle number and size during the postprandial state. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21(1):39-45.
83. Pérez-Martínez P, García-Quintana JM, Yubero-Serrano EM, Tasset-Cuevas I, Túnez I, García-Ríos A, et al. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: Evidence from a human intervention study. *Clin Sci*. 2010;119(6):251-61.
84. Peairs AD, Rankin JW, Lee Y. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J*. 2011;10(1):122.
85. McFarlin BK, Carpenter KC, Henning AL, Venable AS. Consumption of a high-fat breakfast on consecutive days alters preclinical biomarkers for atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr*. 2017;71(2):239-44.
86. Laitinen TT, Nuotio J, Rovio SP, Niinikoski H, Juonala M, Magnussen CG, et al. Dietary fats and atherosclerosis from childhood to adulthood. *Pediatrics*. 2020;145(4):e20192786.
87. Xue W, Fan Z, Li L, Lu J, Zhai Y, Zhao J. The chemokine system and its role in obesity. *J Cell Physiol*. 2019;234(4):3336-46.
88. Bianchi VE. Weight loss is a critical factor to reduce inflammation. *Clin Nutr ESPEN*. 2018;28:21-35.
89. Kanzler I, A. Liehn E, R. Koenen R, Weber C. Anti-inflammatory therapeutic approaches to reduce acute atherosclerotic complications. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;13(1):37-45.
90. Jackson KG, Clarke DT, Murray P, Lovegrove JA, O'Malley B, Minihane AM, et al. Introduction to the DISRUPT postprandial database: Subjects, studies and methodologies. *Genes Nutr*. 2010;5(1):39-48.
91. Orem A, Yaman SO, Altinkaynak B, Kural BV, Yucesan FB, Altinkaynak Y, et al. Relationship between postprandial lipemia and atherogenic factors in healthy subjects by considering gender differences. *Clin Chim Acta*. 2018;480:34-40.
92. Castro Cabezas M, Halkes CJM, Meijssen S, Van Oostrom AJHHM, Erkelens DW. Diurnal triglyceride profiles: A novel approach to study triglyceride changes. *Atherosclerosis*. 2001;155(1):219-28.
93. Klein S, Burke LE, Bray GA, Blair S, Allison DB, Pi-Sunyer X, et al. Clinical

- implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: A statement for professionals from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2004;110(18):2952-67.
94. Bradley J. Immunoglobulins. *J Med Genet*. 1974;11:80-90.
 95. Viña J, Gambini J, López-Grueso R, M. Abdelaziz K, Jove M, Borras C. Females live longer than males: Role of oxidative stress. *Curr Pharm Des*. 2012;17(36):3959-65.
 96. Bloomer RJ, Lee SR. Women experience lower postprandial oxidative stress compared to men. *Springerplus*. 2013;2(1):1-8.
 97. 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.
 98. Bell HK, Bloomer RJ. Impact of serum estradiol on postprandial lipemia, oxidative stress, and inflammation across a single menstrual cycle. *Gend Med*. 2010;7(2):166-78.
 99. Kander MC, Cui Y, Liu Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*. 2017;21(5):1024-32.