

ARTICULO ORIGINAL

Correlación entre las concentraciones séricas de apolipoproteína B y colesterol LDL en una muestra poblacional. Utilidad de la apolipoproteína B para valorar riesgo aterogénico

Correlation between serum concentrations of apolipoprotein B and LDL cholesterol in a population sample. Usefulness of apolipoprotein B to value atherogenic risk

***Prudente I, Castro M, Alallon W**

Departamento de Laboratorio Clínico. Hospital de Clínicas. Montevideo-Uruguay

RESUMEN

La apolipoproteína B (apoLp B) es el principal constituyente proteico de la vía aferente del colesterol a los tejidos periférico. Se ha propuesto que sea un mejor marcador de enfermedad cardiovascular que el colesterol LDL(cLDL). El objetivo de este trabajo es determinar las concentraciones plasmáticas de apoLp B, su relación con el cLDL, el valor deseable y de alto riesgo, y evaluar las hiperapolipoproteinemias B en pacientes con cLDL por debajo del valor de riesgo (cLDL<160 mg/dl). Se estudiaron 265 muestras de pacientes en el Hospital Universitario. Se determinó apolipoproteína B, CT, TG, cHDL y cálculo de cLDL. Cuando el valor de cLDL fue ≤ 130 mg/dl, el valor de apoLp B fue ≤ 98 mg/dl, un valor deseable. Para un valor de cLDL ≥ 160 mg/dl, el valor de apoLp B fue ≥ 120 mg/dl, un valor de riesgo alto. De los pacientes con cLDL ≤ 160 mg/dl (n=202), un 3,5% tuvieron valores de apoLp B mayores de 120 mg/dl. Encontramos un valor deseable de apoLp B de 98 mg/dl y un valor de riesgo alto de 120 mg/dl. Un 3,5% de pacientes que teniendo valores de cLDL de 160 mg/dl presentaron apolipoproteína B ≥ 120 mg/dl, que podría corresponder a pacientes con hiperapolipoproteinemia B. Es en estos pacientes con sospecha de alto riesgo coronario pero que presentan cLDL por debajo del nivel de riesgo, en quienes se recomienda dosificar apoLp B, como factor emergente de riesgo coronario.

Palabras claves: Apolipoproteína B, hiperapolipoproteína B, riesgo aterogénico.

ABSTRACT

Apolipoprotein B (apoLp B) is the main protein component of the cholesterol delivery route to peripheral tissues. It has been proposed as a better predictor of cardiovascular disease than LDL cholesterol. The aims of this study were to determine the serum concentration of apoLp B, its relation with LDL cholesterol, its "desirable" and "high risk" limits and to evaluate patients with hyperapolipoproteinemia B and cLDL below risk values. A total of 265 subjects were randomly selected from a population referred for lipid studies to the Hospital Universitario. We measured concentrations of apoLp B, total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and calculated LDL cholesterol. When LDL cholesterol was ≤ 130 mg/dl, apoLp B value was ≤ 98 mg/dl, which corresponds to a "desirable" limit. When LDL cholesterol was ≥ 160 mg/dl, apoLp B value was ≥ 120 mg/dl, corresponding to a "high risk" limit. Of all patients with LDL cholesterol ≤ 160 mg/dl (n=202), 3.5% had apolipoprotein B ≥ 120 mg/dl. We found a desirable apoLp B value of 98 mg/dl and high risk apoLp B value of 120 mg/dl. In the patients with LDL cholesterol below 160 mg/dl, 3.5% showed apoLp B values above 120 mg/dl and they were considered patients with hyperapolipoproteinemia B. In this population with suspicion of coronary disease but without risk LDL cholesterol values, the measurement of apoLp B, as an emerging coronary risk factor, is strongly recommended.

Keywords: Apolipoprotein B, hyperapolipoproteinemia B, atherogenic risk.

**Autor correspondiente: Dr. Isidoro Ramón Prudente,
Departamento de Laboratorio Clínico. Hospital de Clínicas
Juan Benito Blanco 1293/302. Montevideo-Uruguay
E-mail: isipru3@adinet.com.uy*

INTRODUCCION

La apolipoproteína B (apoLp B) es el componente proteico de las lipoproteínas de baja densidad plasmáticas (LDL) y como tal ejerce un papel crítico en el metabolismo de éstas. La apoLp B, llamada apoLp B100, es una proteína de gran tamaño, (550 KDa después de la glucosilación), con 4529 aminoácidos, insoluble en soluciones acuosas, rica en cisteína, lisina y arginina y un 9% de su masa se debe a la glicosilación. Su función principal es el transporte del hígado a los tejidos de lípidos, especialmente esteroides de colesterol, y para ello es esencial la interacción con su receptor. Los residuos de lisina y arginina son indispensables en la interacción con el receptor de LDL (LDLr), y a medida que estos residuos son químicamente modificados, la afinidad entre ligando y receptor va disminuyendo hasta desaparecer cuando el 15–20% de lisinas han sido modificadas.

El reconocimiento de apoLp B por el LDLr implica por tanto una interacción electrostática entre residuos básicos de la apoLp B y residuos ácidos del LDLr. Dos regiones de la apoLp B100, los residuos 3147-3157 y 3359-3367, son ricas en residuos básicos y presentan similitudes con el dominio de unión al receptor de la apoLp E. Se han utilizado anticuerpos monoclonales, Moabs-antiapoLp B100 para realizar el mapeo del dominio de unión al LDLr de los residuos 3000 al 4000¹.

La capacidad de la apoLp B100 para formar una asociación muy estable con los lípidos de la superficie de LDL se debe a la presencia de dos tipos de estructuras lipofílicas secundaria: hélices alfa anfipáticas y secuencias hidrofóbicas ricas en prolina, con el potencial de formar hojas beta. Los análisis de hidrofobicidad de la apoLp B100 revelan que existen diversas regiones con secuencias hidrofílicas alternadas con dominios lipofílicos, hecho que sugiere que la apoLp B100 interacciona con los lípidos de las LDL por múltiples lugares. Algunas secuencias de la apoLp B también pueden penetrar dentro de la región del núcleo².

La apoLp B también se une a la heparina y a los proteoglicanos de la pared arterial y es necesaria para la síntesis y secreción de VLDL del hígado³.

Existen mutaciones de apoLp B que determinan la aparición de mutantes de apoLp B truncadas, muchas de estas retienen capacidad de asociarse a partículas de lipoproteína y son además detectables en plasma. Estas presentan un rango de tamaño de apoLp B27,6 hasta apoLp B89, con diversas moléculas de tamaño intermedio. Se han detectado mutaciones que predicen la

generación de productos de apoLp B más cortos (apoLp B2, apoLp B9), pero estos fragmentos no son detectables en plasma, lo que permite concluir que existe una longitud mínima de apoLp B requerida para permitir la producción y secreción de las lipoproteínas hepáticas. La longitud mínima de apoLp B que permite la secreción detectable *in vivo* es apoLp B28, la cual permite tener una longitud mínima de apoLp B para dirigir el reclutamiento efectivo de lípidos hacia la partícula lipoproteica naciente¹.

La apoLp B se ha mostrado útil en evidenciar riesgo cardiovascular adicional al indicado por el cLDL. La apoLp B representa un "resumen" de todas las partículas aterogénicas del plasma, lipoproteínas de muy baja densidad: VLDL, de densidad intermedia: IDL, y de baja densidad: LDL. También la detección de aumentos de apoLp B en sujetos aparentemente normolipémicos, pero hipertriglicéridémicos, es indicativo del predominio de lipoproteínas LDL pequeñas y densas, con una relación cLDL/apoLp B inferior a lo normal, como por ejemplo en la Diabetes Mellitus tipo 2⁴, en el síndrome metabólico y en la hiperlipemia familiar combinada (HFC). Por eso es de gran interés conocer el límite superior de referencia de apoLp B que permita reconocer sujetos con niveles aumentados de la misma.

Se han comunicado diferentes límites superiores de referencia para apoLp B, la mayoría de ellos basados en el percentil 90, de una población de referencia. Sin embargo, la aproximación más lógica parece ser la realizada por el estudio Framingham, el cual ha calculado el límite superior de referencia como aquel valor de apoLp B que se corresponde con el valor de cLDL de 160 mg/dl, de esta manera se ha obtenido un límite superior de referencia de 120 mg/dl⁵.

El Third National Health Nutrition Examination Survey (NHANES III) deduce un límite de 157 mg/dl para un cLDL \geq de 160 mg/dl⁶.

En el Hospital Universitario de Valencia (año 2000) se encontraron valores de apoLp B de 127,4 mg/dl para un valor de cLDL \geq de 160 mg/dl⁷.

El Amorís Study destaca la importancia de la apoLp B en el diagnóstico y tratamiento de sujetos con alteraciones lipídicas pero con cLDL normal, al estar dicha apoLp B presente en otras partículas (IDL, VLDL, Lp (a))⁸. El riesgo de sufrir un infarto agudo de miocardio (IAM), es mayor en pacientes con cLDL normal pero apoLp B alta, que en sujetos con cLDL alta y apoLp B normal.

Resulta de gran interés determinar los valores de apoLp B y la correlación de estos con los niveles de decisión clínica para cLDL. Al igual que la valoración de la apoLp B como factor de riesgo emergente cuando el nivel de cLDL no indica riesgo cardiovascular, especialmente asociado con hipertrigliceridemia.

El objetivo de este trabajo es establecer los valores de correlación de apoLp B, factor de riesgo emergente, con el cLDL a niveles deseable y de riesgo alto y evaluar los individuos con hiperapoliipoproteinemia B y cLDL sin riesgo.

MATERIALES Y METODOS

Doscientos sesenta y cinco muestras de suero obtenido al azar de la población de pacientes pertenecientes a los diferentes servicios de internación y policlínicas del Hospital Universitario, que concurrieron a la policlínica de extracciones del Laboratorio Central entre el 8/2004 y el 10/2004.

La sangre fue extraída por punción venosa periférica luego de un ayuno de 12 horas y colectada en tubos de plástico sin anticoagulante, centrifugada durante 15 minutos a 2000 rpm dentro de las dos horas de la recolección y dosificando:

Colesterol Total (CT): test enzimático con colorimetría según Trinder utilizando la colestero esterasa y la colestero oxidasa⁹.

cHDL: test enzimático *in vitro* para la determinación directa del cHDL utilizando enzimas modificadas por polietilenglicol y sulfato de dextrano¹⁰.

Triglicéridos (TG): método enzimático con colorimetría según Trinder¹¹.

Dichas determinaciones fueron realizadas en un autoanalizador Hitachi 911 con calibradores y controles Precipath y Precinorm Universal en 2 niveles (Roche) para CT y TG. Utilizamos Calibrador, Precinorm y Precipath Lípidos para cHDL.

cLDL: se calcula por Fórmula de Friedewald: $cLDL = CT - (cHDL + TG/5)$ ¹² y con pools de suero confeccionado a estos efectos, con 2 niveles de cLDL: 100 y 160 mg/dl, que son procesados durante 20 días consecutivos, para encontrar su media y desvíos standard.

ApoLpB: inmunoturbidimetría¹³ realizada en autoanalizador Hitachi 911 y control Proteínas (Roche) con 2 pools de sueros con valores de apoLp B de 74 y 111 mg/dl, que se corren durante 20 días, se calcula media, desvío estándar y coeficiente de variación.

Los rangos de referencia utilizados son¹⁴⁻¹⁵:

- HDL:** Bajo < 40 mg/dl
Alto > 60 mg/dl.
- Colesterol:** Deseable < 200 mg/dl
Borderline: 200 - 239 mg/dl
Alto: ≥ 240 mg/dl
- Triglicéridos:** Normal < 150 mg/dl
Borderline 150 - 199 mg/dl
Alto 200 - 499 mg/dl
Muy alto ≥ 500 mg/dl
- cLDL:** óptimo < 100 mg/dl
Subóptimo 100 - 129 mg/dl
Borderline 130 - 159 mg/dl
Alto 160 - 189 mg/dl
Muy alto ≥ 190 mg/dl.

ApoLp B: los valores de referencia según metodología utilizada (ROCHE) corresponde a 66-133 mg/dl para hombres y de 60-117 mg/dl para mujeres.

El estudio estadístico se realiza calculando media, desvío standard (DS), coeficiente de variación (CV), coeficiente de correlación (r)¹⁶.

RESULTADOS

Los resultados de colesterol, triglicéridos y cHDL y cLDL calculado por fórmula de Friedewald.

De los dos pools de sueros, Pool 1 y Pool 2, corridos durante 20 días en el autoanalizador Hitachi 911 se muestran en la tabla 1. Los controles Precinorm y Precipath Lípidos se mantuvieron siempre dentro de los rangos de referencia para los mismos.

Tabla 1. Evaluación de las técnicas

	POOL 1			POOL 2		
	Media (mg/dl)	DS (mg/dl)	CV %	Media (mg/dl)	DS (mg/dl)	CV %
CT	180,05	4,0	2,22	238,75	6,70	2,8
TG	150,55	24,06	15,98	160,95	11,15	6,9
cHDL	43,05	1,79	4,1	47,85	1,60	3,3
cLDL (calc.)	106,95	3,63	3,4	158,65	6,04	3,8

Para el pool de sueros con apoLp B con un valor promedio de 74 mg/dl, obtuvimos un CV de 3,4% y para los sueros con un valor de apoLp B de 111 mg/dl, el CV fue de 1,98%.

El resultado de los 265 sueros apoLp B en función de cLDL se muestra en la gráfica 1 y su ecuación correspondiente, con la cual se obtiene:

Para cLDL de 160 mg/dl corresponde un valor de apoLp B de 120 mg/dl.

Para cLDL de 130 mg/dl, corresponde un valor de apoLp B de 98 mg/dl.

En la figura 1 se muestra la relación entre el colesterol LDL y la apoLp B y la determinación de los valores de apoLp B que se correlacionan con el cLDL mayor de 160 mg/dl y con el cLDL menor de 130 mg/dl.

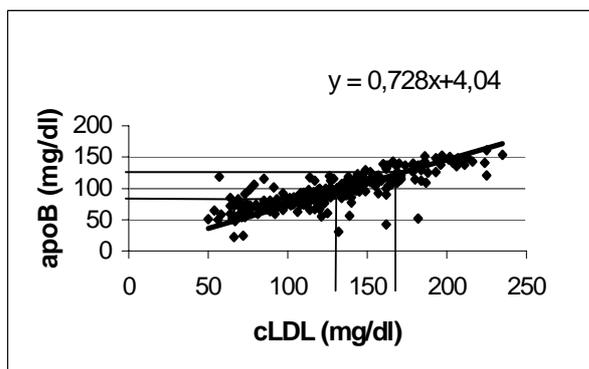


Figura 1. Relación cLDL- apoLpB

Utilizando la ecuación de la figura para cLDL de 130 y 160 mg/dl obtenemos los siguientes valores de apoLp B:

$$y = 0,728(130) + 4,04 = 98,6 \text{ mg/dl}$$

$$y = 0,728(160) + 4,04 = 120,5 \text{ mg/dl}$$

Coef. correlación r apoLp B - cLDL = 0,853

En los pacientes que tuvieron un cLDL menor de 160 mg/dl (n=202), encontramos 7 resultados que presentaron apoLp B por encima de 120 mg/dl, o sea eran portadores de hiperapolipoproteinemia B cuando sus valores de cLDL no era de riesgo. Esto representa un 3,5% de la población con valores de cLDL <160 mg/dl. De estos 7 pacientes, un 70% (5 de 7) presentaron triglicéridos altos (TG >150 mg/dl y en todos ellos los TG fueron >200 mg/dl) y en su mayoría correspondieron al sexo femenino (4 de 5) y con un promedio de edad de 64 años.

Los restantes 2 pacientes (2 de 7) tuvieron TG <150 mg/dl, 1 correspondió al sexo femenino y uno al sexo masculino, con un promedio de edad de 50 años.

Los perfiles lipídicos y datos demográficos se muestra en la tabla 2 (mg/dl).

Tabla 2. Perfil lipídico y datos demográficos

	apoLp B * (mg/dl)	cLDL* (mg/dl)	TG* (mg/dl)	Sexo	Edad (años)
1	121	126	129	M	52
2	123	144	238	F	65
3	122	147	278	M	71
4	129	149	122	F	49
5	126	152	239	F	59
6	120	156	308	F	62
7	121	157	214	F	65
Media	123	147	218		60
DS+/-	3,2	10,5	70,3		7,7

DISCUSION

Al analizar los datos observamos que apoLp B se correlaciona positivamente con el cLDL.

La apoLp B ha sido considerada como parámetro independiente predictor de riesgo cardiovascular^{7,8,17}.

Encontramos un valor de apoLp B de 98 mg/dl, que se corresponde con un cLDL <130 mg/dl (valor deseable) y un valor de apoLp B de 120 mg/dl, que se corresponde con un cLDL ≥ 160 mg/dl (valor de riesgo).

Ambos valores concuerdan con los descriptos en la literatura internacional: apoLp B ≤ 105 mg/dl para cLDL menor de 130 mg/dl y apoLp B ≥ 127 mg/dl para cLDL mayor de 160 mg/dl⁷ o apoLp B ≥ 112 mg/dl³ o > 120 mg/dl⁵.

También se plantea que las partículas apoLp B pueden brindar información complementaria a la valoración del cLDL. Dado que las partículas VLDL, IDL y LDL solo contienen una molécula de apoLp B, la concentración en suero de la misma refleja el riesgo asociado con todas estas partículas aterogénicas. Además, la concentración de apoLp B en suero proporciona información sobre el número de partículas, especialmente de LDL, ya que en ellas se encuentra aproximadamente el 90% del total de apoLp B circulante. Por tanto su determinación puede ayudar a tipificar el riesgo, desde el punto de vista del metabolismo lipídico y el tratamiento de algunos sujetos. Esto parece especialmente cierto en sujetos con riesgo cardiovascular elevado y concentraciones de cLDL normal, con o sin hipertrigliceridemia³.

En nuestro trabajo evaluamos los pacientes que tenían valores de cLDL <160 mg/dl, pero que presentaban hiperapolipoproteinemia B. Encontramos que en este grupo de pacientes (n=202), un 3,5% presentaban apoLp B por encima de 120 mg/dl y cLDL menor de 160 mg/dl, pudiendo ser pacientes que aunque presenten valores de cLDL sin riesgo, igualmente presenten riesgo asociado alto.

Este 3,5% de pacientes presentaron triglicéridos altos (TG >200 mg/dl) en un 70% de los casos (5 de los 7 pacientes) y solamente 2 de los 7 tuvieron TG <150 mg/dl.

Por lo anteriormente expuesto consideramos de sumo interés la dosificación de apoLp B en pacientes con cLDL menor de 160 mg/dl pero que tienen sospecha de alto riesgo cardiovascular asociado¹⁴ y diferenciar hipertrigliceridemias con mayor riesgo aterogénico¹⁸⁻²⁰.

BIBLIOGRAFIA

1. González Sastre F, Guinovart J. Patología Molecular. Barcelona: Masson; 2003.
2. Jorde L, Carey J, Bamshad M, White R. Genética Médica. 3ª ed. Salt Lake City, Utah: Elsevier; 2005.
3. González de Buitrago JM, Medina Jiménez JM. Patología Molecular. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 2001.
4. Blanco Vaca F, Ordóñez Llanos J, Wagner A. Lípidos, lipoproteínas y apolipoproteínas: nuevas indicaciones en el diagnóstico, evaluación y prevención del riesgo cardiovascular. Barcelona: Hospital Creu i Sant Pau; 2000.
5. Miremadi J, Sniderman H, Frohlich J. Can measurement of serum apolipoprotein B replace the lipid profile monitoring of patients with lipoprotein disorders?. Clin. Chem 2002; 48 (3): 484-8.
6. Bachorik P, Lovejoy K, Carroll M, Jonson C. Apolipoprotein B and AI distributions in the USA, 1988-1991: results of the National Health and Nutrition Examination Survey III. Clinical Chemistry 1997; 43 (12): 2364-78.
7. Villar Serrano J, Server Huertas R, Bretó Gilabert M. Concentraciones séricas de las apolipoproteínas A-I y B en una población de la Comunidad Valenciana: su utilidad para valorar el colesterol como factor de riesgo cardiovascular. Clin Invest Arterioscl 2001; 13 (5): 195-9.
8. Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit A, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-1, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. The Lancet 2001; 358: 2026-33.
9. Allain C, Poon L, Chan C, Richmond W, Fu P. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 1974; 20: 470-5.
10. Nauch H, Marz W, Haas B, Wieland H. Homogeneous assay for direct determination of high-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1996; 43:430-5.
11. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19: 476-82.
12. Fiedewald W, Levy R, Fredericson D. Estimation of the concentration of C-LDL in plasma without use the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-507.
13. Rifai N, King M. Immunoturbidimetric assays of apolipoproteins A, AI, AII and B in serum. Clin Chem 1986; 32: 957-61.
14. 1º Consenso Nacional de Aterosclerosis. 2004. Rev Urug Pat Clin 2005; 39: 9-50.
15. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP), Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). NCEP, National Heart, Lung, and blood Institute. National Institutes of Health. NIH Publication N° 01-3670, Mayo 2001.
16. Martell M, Fescina R, Martínez G, Martínez M, Delgado L, García E, et al. Introducción a la metodología de la investigación científica. 1ª ed. Montevideo. Oficina del Libro. AEM. 1999.
17. Diaz J, Castr M, Liem A. Utilidad de la medición de la apolipoproteína B en la práctica clínica. Clin Invest Arterioscl 2004; 17: 142-6.
18. Veerkamp M, De Graaf J, Hendriks J, Demacker P, Stalenhoef A. Nomogram to diagnose familial combined hyperlipidemia on the basis of results of a 5-year follow-up study. Circulation 2004; 109: 2980-5.
19. Wagner A, Perez A, Zapico E, Ordoñez-Llanos J. Non-HDL colesterol and apolipoprotein B in the dyslipidemic classification of type 2 diabetic patients. Diabetes Care 2003; 26: 2048-51.
20. Sniderman A, Ribalta J, Castro Cabezas M. How should FCHL be defined and how should we think about its metabolic bases?. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2001; 11: 259-73.