

Puesta al día: pruebas de laboratorio en Endocrinología y Nutrición

El laboratorio clínico y las dislipemias

JESÚS MÉNDEZ GONZÁLEZ^a, JESÚS MARTÍN CAMPOS^{b,c}
Y JORDI ORDÓÑEZ LLANOS^{a,c}

^aServicio de Bioquímica. Hospital de la Santa Creu i de Sant Pau. Barcelona. España.

^bInstitut de Recerca. Hospital de la Santa Creu i de Sant Pau. Barcelona. España.

^cDepartament de Bioquímica i Biologia Molecular. Universitat Autònoma de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. Barcelona. España.

THE CLINICAL LABORATORY AND DYSLIPIDEMIA

The prevalence of dyslipidemia (alterations in lipoprotein metabolism) as a risk factor for cardiovascular disease continues to rise. Determination of circulating levels of lipids, lipoproteins and related proteins allows the diagnosis, treatment and follow-up of the various types of dyslipidemia. However, numerous factors influence the concentration of these constituents in the circulation. These factors depend both on the individual (habits, physical characteristics, presence of other risk factors) and on the sample and analytical methods employed and must be taken into account when assessing and interpreting laboratory results. Similarly, the cause of the different forms of dyslipidemia may lie not only in environmental but also in genetic factors. Consequently, the inclusion of genetic tests in the diagnosis of dyslipidemia is increasingly frequent.

Key words: Lipids. Clinical laboratory. Preanalytical variability. Biological variability. Analytical variability. Dyslipidemia. Genetics.

Las dislipemias (alteraciones del metabolismo lipoproteínico) son un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular de creciente prevalencia. La determinación de las concentraciones de lípidos, lipoproteínas y proteínas relacionadas circulantes permite el diagnóstico, el tratamiento y el seguimiento de las diferentes dislipemias. Sin embargo, existen numerosos factores que influyen en la concentración de estos constituyentes en la circulación y dependen tanto del individuo (hábitos, características físicas, otros factores de riesgo) como de la muestra analizada y la metodología analítica empleada, y hay que tenerlos en cuenta a la hora de valorar e interpretar los resultados analíticos. Asimismo, las diferentes dislipemias pueden tener su origen no sólo en factores ambientales, sino en factores genéticos; por este motivo, la inclusión de pruebas genéticas para el diagnóstico de las dislipemias es cada vez más frecuente.

Palabras clave: Lípidos. Laboratorio clínico. Variabilidad preanalítica. Variabilidad biológica. Variabilidad analítica. Dislipemias. Genética.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones del metabolismo lipídico (dislipemias) son un problema frecuente y creciente. Las dislipemias se detectan mediante el análisis de la concentración de los lípidos circulantes, pero esta concentración está influida por numerosos factores, como la absorción digestiva, la síntesis de las lipoproteínas (las partículas mixtas de lípidos y apolipoproteínas que permiten disolver los lípidos en medio acuoso) y su circulación, el metabolismo de las lipoproteínas y su interacción con las células mediante receptores específicos, los procesos que afectan a esta interacción como la correcta síntesis de las proteínas receptoras o de las apolipoproteínas que se unen a ellas y el balance entre los mecanismos de transporte de lípidos desde el hígado a los tejidos extrahepáticos y el transporte inverso desde los tejidos extrahepáticos al hígado. El análisis de los lípidos circulantes proporciona los elementos fundamentales para el diagnóstico fenotípico de las dislipemias y

Correspondencia: Dr. J. Ordóñez Llanos.
Departament de Biologia Molecular. Universitat Autònoma de Barcelona.
Edifici M. Campus de la UAB. 08193 Bellaterra. Cerdanyola del Vallès. Barcelona.
España.
Correo electrónico: jordonez@santpau.es

Manuscrito recibido el 30-4-2007 y aceptado para su publicación el 15-9-2007.

para la indicación y el seguimiento de su tratamiento. Sin embargo, la clasificación fenotípica de las dislipemias no distingue si una dislipemia es secundaria (p. ej., a la dieta) o primaria (defectos genéticos que afectan a cualquiera de las etapas anteriormente señaladas). Por esta razón, los laboratorios de lípidos ya no sólo realizan análisis de lípidos circulantes, sino que han incluido pruebas genéticas de mayor o menor complejidad en su cartera de servicios. En esta revisión se repasa algunos temas de importancia para realizar e interpretar correctamente los análisis de lípidos, incluidos aspectos del individuo que se analiza y de los métodos empleados en el análisis.

PERFIL LIPÍDICO

Los resultados de los análisis de lípidos circulantes están influidos por diversos factores: los propios del individuo en estudio (fisiológicos o patológicos), de la muestra que se analiza o del método analítico empleado (analíticos). Los factores fisiológicos y de la muestra, denominados preanalíticos, son múltiples y dependen tanto del individuo analizado, sus hábitos conductuales y tóxicos y de su estado fisiológico como de la muestra obtenida y de la forma de obtenerla y conservarla. Esta variación preanalítica afecta de forma diferencial a los diversos constituyentes del perfil lipídico y existen unas recomendaciones internacionales¹ para minimizarla. A continuación se detallan estas recomendaciones para las causas más frecuentes de variabilidad preanalítica.

FACTORES PREANALÍTICOS QUE INFLUYEN EN EL PERFIL LIPÍDICO

Del individuo

Alcohol, tabaco

En el caso del alcohol, los efectos dependen del consumo. Un consumo máximo de hasta 20 g/día en mujeres o hasta 30 g/día en varones induce un perfil lipídico con aumento del colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) respecto a los abstemios; consumos superiores aumentan más el cHDL, pero también los triglicéridos (Tg)². Los fumadores tienen mayor concentración de Tg y colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y menor de cHDL y apolipoproteína A-I (apoA-I)³. Los efectos dependen cuantitativamente del consumo. Se recomienda no variar el consumo alcohólico y tabáquico habitual antes de la obtención de las muestras.

Ayuno

La determinación de colesterol total, apoA-I y apoB y lipoproteína (a) [Lp(a)] no requiere ayuno previo, ya que no muestran modificaciones posprandiales evidentes. Sin embargo, la ingestión de cualquier grasa

aumenta de forma variable la concentración de los Tg y del colesterol de las lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL) y disminuye (5-10%) el cHDL. En consecuencia, las muestras deben obtenerse tras ayuno de 10-12 h, excepto para la determinación de colesterol total y apolipoproteínas.

Café

El efecto del café en los lípidos parece depender de su forma de elaboración. El café hervido aumenta las concentraciones de colesterol total, cLDL y Tg⁴; el café filtrado no parece afectarlas significativamente. Debería evitarse la ingestión de café en las 10-12 h previas a la extracción, de acuerdo con la recomendación de ayuno previo a la extracción.

Dieta

Las concentraciones de colesterol total, cLDL, Tg y apoB se incrementan con el consumo de grasa saturada; el incremento es menor en el caso del consumo de grasa poliinsaturada. El consumo de grasa monoinsaturada tiende a disminuir las concentraciones de estos constituyentes⁵. Los vegetarianos presentan mayor concentración de cHDL y menor de cLDL; los efectos de la dieta vegetariana se observan aproximadamente a las 5 semanas de iniciada. En consecuencia, para que el perfil lipídico sea representativo del efecto de la dieta habitual, ésta debe mantenerse durante las 2 semanas previas a la extracción, independientemente de que se trate de una dieta hipolipemiente o no.

Edad

Las concentraciones de los constituyentes lipídicos aumentan con la edad, excepto las de cHDL. Este hecho se ha observado en diferentes poblaciones, entre ellas la española⁶. En los recién nacidos las concentraciones de los constituyentes lipídicos aumentan hasta alcanzar el 75-80% de los valores del adulto durante la primera semana de vida⁷; la Lp(a) es una excepción, ya que aumenta más lentamente.

Ejercicio

El nivel de ejercicio habitual debe mantenerse sin cambios antes de las extracciones, aunque se debe evitar cualquier ejercicio extenuante o no habitual 24 h antes⁸. El ejercicio intenso, especialmente de tipo aeróbico, modifica los constituyentes lipídicos y disminuye especialmente las concentraciones de Tg y aumenta las de cHDL y apoA-I⁹. El ejercicio regular produce similares cambios, pero de menor magnitud¹⁰.

Embarazo, parto, lactancia

No se debería realizar perfiles lipídicos durante el embarazo, excepto en el caso del seguimiento de algunas hipertrigliceridemias severas que pueden exacerbarse durante la gestación. En el embarazo aumentan

las concentraciones de todos los constituyentes lipídicos, inclusive las apolipoproteínas y la Lp(a)¹¹. Las concentraciones lipídicas vuelven a los valores previos aproximadamente a los 3 meses del parto o del final de la lactación¹².

Enfermedades

Cualquier enfermedad aguda o crónica agudizada causa alteración en el perfil lipídico. Esta alteración se produce especialmente a expensas de una disminución del cHDL y, posteriormente, del cLDL¹³. Sin embargo, durante las primeras 12-24 h de evolución de episodios agudos (p. ej., infarto de miocardio, accidente cerebrovascular), el perfil lipídico –especialmente el colesterol total, el cHDL y el cLDL– permanece lo suficientemente estable para ser representativo del estado previo a la fase aguda⁸. Se recomienda que el perfil lipídico se valore durante las primeras 24 h de evolución de los episodios agudos y, si no es posible, no se valore hasta después de 2-3 meses de la resolución de cualquier enfermedad aguda o agudización de una crónica.

Etnia

Existen pocas variaciones dependientes de la etnia, excepto las relacionadas con dietas específicas. Se ha descrito una mayor concentración de Lp(a) en la raza negra¹⁴.

Fármacos

Numerosos fármacos, aparte de los hipolipemiantes, pueden alterar el perfil lipídico habitual (tabla 1)¹⁵. Se recomienda suspender, desde varios días a semanas antes del análisis y siempre que sea posible, las medicaciones que alteren el perfil lipídico; si esto no resul-

ta posible, debe registrarse la medicación, con especial atención a su dosis y el momento de la última toma, para relacionarla con eventuales alteraciones del perfil lipídico.

Sexo

A partir de la pubertad, los varones experimentan una disminución de la concentración de cHDL, mientras que en las mujeres aumenta hasta la menopausia¹⁶. En la perimenopausia el colesterol total y el cLDL pueden aumentar aproximadamente un 15 y un 20%, respectivamente; una vez ocurrido este aumento, se mantiene durante la menopausia¹⁷.

Peso corporal

La obesidad aumenta las concentraciones de Tg, colesterol total y cLDL, a la vez que disminuye las de cHDL¹⁸. La disminución de peso corrige estas modificaciones, que se observan más precozmente (a partir de 2-4 semanas) en la concentración de Tg.

Variación biológica individual

La variación biológica individual es uno de los factores más importantes y menos conocidos para interpretar el perfil lipídico. Independientemente de los factores ya mencionados, hay variaciones individuales e interindividuales de las concentraciones lipídicas que originan variación biológica. Las variaciones individuales generalmente son mayores que las analíticas; ante una variación inesperada de una magnitud lipídica, siempre se debería excluir las causas extraanalíticas antes que las analíticas. La variación individual es diferente según las poblaciones en que se estudie; en nuestro país se ha calculado la variación individual de los constituyentes lipídicos (tabla 2)¹⁹. De todos los

TABLA 1. Efecto de diferentes fármacos sobre el perfil lipídico

	CT	cHDL	cLDL	cVLDL	Tg
Diuréticos tiacídicos ^a	↑	↓	↑	↑	↑
Bloqueadores beta ^b		↓		↑	↑
Corticoides			↑	↑	↑
Progestágenos		↓	↑		
Estrógenos		↑	↓		
Nandrolona	↑	↓	↑		↑
Tamoxifeno		↑	↓		↑
Antirretrovirales antiproteásicos	↑				↑
Carbamazepina	↑	↑	↑		↑
Fenobarbital		↑			↑
Valproato		↑			
Fenitoína		↑			
Cimetidina, roxatidina, ranitidina	↑				
Itraconazol, ketoconazol	↓				↑
Interferón α		↓			↑
Ciclosporina, sirolimus	↑				↑
Amiodarona, clopidogrel	↑	↑	↑	=	=
Retinoides	↑	↓			↑

cHDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; CT: colesterol total; cVLDL: colesterol de las lipoproteínas de muy baja densidad; Tg: triglicéridos.

^aEl efecto es prácticamente neutro a las concentraciones más utilizadas (12,5 mg/día) en el tratamiento de la hipertensión moderada.

^bEl efecto es prácticamente neutro para los bloqueadores beta cardioselectivos.

TABLA 2. Variaciones individuales de los principales constituyentes lipídicos

Magnitud	Variabilidad intraindividual (%)	Variabilidad analítica (%)
Colesterol total, Tg, cHDL, cLDL, apoA-I, apoB, Lp(a)	7; 18; 7; 14; 6,5; 13,5; 9*	< 1; < 3; < 4, según métodos (2-10%); < 5; < 5; < 5

Apo: apolipoproteína; cHDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; Tg: triglicéridos.

*Datos procedentes de diferentes estudios internacionales; la variación es del 7,5% a concentraciones elevadas y del 20% a concentraciones consideradas "normales" (< 200 mg/l).

constituyentes lipídicos, los Tg son los que muestran una mayor variación individual, y algunos estudios han demostrado que puede llegar hasta el 30% en muestras obtenidas en ayunas¹⁹. Esta variabilidad también debe tenerse en cuenta para considerar significativos los resultados de la terapéutica. Se ha recomendado obtener muestras seriadas para minimizar la variabilidad individual; en la práctica, la seriación sólo es recomendable para casos dudosos de decisión clínica o terapéutica.

De la muestra

Condiciones de la extracción sanguínea

Idealmente, las extracciones deberían realizarse en sedestación, tras 5 min de reposo. El torniquete (produce hemoconcentración) no debería mantenerse más de 1 min y, de ser posible, debería realizarse la extracción sin utilizarlo.

Condiciones de la muestra

Se debe obtener preferentemente muestras de suero o plasma (con heparina con litio o sódica o ácido etilendiaminotetraacético [EDTA] como anticoagulante). Los valores obtenidos en plasma se habrían de multiplicar por 1,03 para igualarlos a los obtenidos en suero, ya que las concentraciones recomendadas para el diagnóstico y fijar objetivos terapéuticos de las dislipemias se refieren a valores obtenidos en muestras de suero. Ciertos anticoagulantes tienen un efecto osmótico y extraen agua de los elementos formes (hematíes, principalmente) hacia el plasma y lo diluyen. Este efecto es máximo con anticoagulantes como el citrato y el oxalato⁸. En el caso de la heparina y el EDTA, el efecto osmótico es menor; no obstante, el efecto lipolítico de la heparina puede causar disminución in vitro de las concentraciones de los Tg si la muestra no se conserva a baja temperatura²⁰. La separación del suero/plasma debe hacerse antes de las 3 h de la extracción. Si no se analiza inmediatamente los constituyentes lipídicos del suero/plasma, deben mantenerse a 4 °C durante un máximo de 24 h; los lípidos asociados a las lipoproteínas de baja y alta densidad son los más inestables en refrigeración; por el contrario, el colesterol total se mantiene inalterado tras 4 días a temperatura ambiente. La estabilidad en congelación depende de los constituyentes y la temperatura. A -20 °C, la concentración de colesterol total es estable, pero se recomienda no conservar los demás constituyentes lipí-

dicos más de 3 meses a esa temperatura. Se asume que a -70 o -80 °C los constituyentes lipídicos son estables indefinidamente (al menos 2 años).

ASPECTOS METODOLÓGICOS QUE INFLUYEN EN EL PERFIL LIPÍDICO

Teniendo en cuenta su uso en la clínica, las magnitudes lipídicas se podrían dividir en dos grupos: las determinaciones no especializadas, como colesterol total, Tg totales, fracciones de colesterol (cHDL, cLDL), apolipoproteínas y Lp(a), y las determinaciones propias de laboratorios especializados (el resto).

Colesterol total

Los métodos actualmente disponibles miden el colesterol total con la exactitud (inexactitud < 4%) y precisión (imprecisión < 4%) requeridas para que sus resultados sean comparables a los obtenidos con métodos de referencia o internacionalmente recomendados.

Triglicéridos

La determinación de los Tg totales en el plasma es metodológicamente sencilla; los métodos disponibles satisfacen las actuales recomendaciones internacionales de inexactitud (< 5%) e imprecisión (< 5%); las variaciones plasmáticas de Tg observadas en los pacientes dependen más de la elevada variabilidad individual de este constituyente (aproximadamente un 20-30%) que de variaciones metodológicas. Sin embargo, hay un factor metodológico que puede ser causa de falsas hipertrigliceridemias. La determinación de Tg se realiza midiendo el glicerol (los triglicéridos son combinaciones de glicerol con 3 ácidos grasos) que contienen las muestras; en caso de que en el plasma haya glicerol libre, no unido a los Tg, éste se mide como si proviniera de ellos. Por lo tanto, el glicerol libre circulante causa falsos aumentos de Tg. En la diabetes descompensada y en los sujetos sometidos a nutrición parenteral, la concentración de glicerol puede falsear hasta en un 100% la verdadera concentración de Tg. Se ha demostrado que hasta un 4% de los pacientes ambulatorios y un 12% de los ingresados presentan concentraciones de glicerol libre que falsean en más de un 10% la concentración de Tg²¹. En consecuencia, se recomienda que el glicerol libre solamente se deduzca de la cifra de Tg en los pacientes hospitalizados con diabetes mellitus descompensada o en nu-

trición parenteral y en los pacientes ambulatorios en los que los datos clínicos lo justifiquen²². Sin embargo, independientemente del tipo de pacientes de que se trate, la concentración de Tg es necesaria para calcular el cLDL mediante la fórmula de Friedewald (véase más adelante). Por ello, la inexactitud de la medición es crítica en todos los casos en que se utilice para el citado cálculo.

Colesterol de las lipoproteínas

El método de referencia para determinar las dos fracciones clínicamente significativas del colesterol (cHDL y cLDL) se basa en separarlas por ultracentrifugación. Sin embargo, éste es un método sólo reservado a laboratorios especializados, caro en personal e instrumental y no aplicable a grandes series de muestras. Por este motivo, los laboratorios clínicos utilizan métodos alternativos para ambas determinaciones. Los métodos alternativos son más practicables, pero presentan algunas fuentes de error que hay que conocer para su correcto uso en la práctica clínica.

Para medir el cHDL hay dos grandes tipos de métodos alternativos. El primer grupo requiere la separación de cHDL del resto de las lipoproteínas por precipitación de estas últimas mediante agentes químicos (métodos de precipitación); el segundo grupo permite medir el cHDL sin tal separación y agrupa los denominados métodos homogéneos, directos. Los métodos homogéneos son los más empleados para medir el cHDL. Muchos de los resultados de cHDL obtenidos en los grandes estudios epidemiológicos que sirven de base para las actuales tablas de cálculo de riesgo se han obtenido mediante los métodos de precipitación. Los resultados obtenidos con los métodos directos, homogéneos, muestran muy buena correlación con los obtenidos con métodos por precipitación; en consecuencia, y de acuerdo con las recomendaciones internacionales, los actuales métodos homogéneos “mantienen” la base de conocimiento obtenida con los métodos de precipitación en estudios ya antiguos, como el de Framingham, los estudios MONICA y PROCAM, etc. Algunos métodos directos pueden producir resultados falsamente elevados en la hipertrigliceridemia severa (> 600-800 mg/dl); este hecho debe tenerse en cuenta para la interpretación de los resultados de cHDL en esta situación.

La determinación exacta del cLDL es uno de los grandes retos del laboratorio clínico. Las recomendaciones internacionales fijan como objetivos de calidad analítica para cualquier método que mida la concentración de cLDL con un error total < 12%, una imprecisión máxima del 4% y una inexactitud máxima del $\pm 4\%$ ²³. El objetivo de error total, desafortunadamente, no se alcanza en todas las muestras por los métodos actualmente disponibles para medir o calcular el cLDL. Las numerosas manipulaciones que requiere la ultracentrifugación dificultan la obtención de estos objetivos; como alternativa a la ultracentrifugación, los

laboratorios clínicos disponen de los métodos homogéneos, directos (semejantes a los empleados para cHDL) y del cálculo mediante la fórmula de Friedewald. Los métodos homogéneos son de reciente introducción en la práctica habitual, y empiezan a estar suficientemente contrastados como para que en un futuro próximo sean los más utilizados para medir el cLDL; sin embargo, el método más utilizado en la actualidad es el cálculo de Friedewald. La fórmula de Friedewald para calcular el cLDL se basa en dos premisas: primero, que la relación entre los Tg y el cVLDL es constante y próxima a 5 (cuando las magnitudes se expresan en mg/dl), y segundo, que prácticamente todos los Tg del plasma están unidos a las partículas VLDL. En estas condiciones, el cVLDL se puede calcular como: Tg del plasma/5. A partir de este cálculo, el cLDL puede calcularse fácilmente como²⁴: $cLDL = \text{colesterol total} - cHDL - (Tg/5)$. El cálculo de Friedewald no puede aplicarse a muestras con Tg > 400 mg/dl o en pacientes con disbetalipoproteinemias, hepatopatías, nefropatías o incluso diabetes, situaciones en que la razón colesterol/Tg en VLDL dista mucho del factor 5. Sin embargo, incluso en las condiciones teóricas de aplicación, la fórmula de Friedewald subestima el verdadero cLDL en más de un 10% en un 10-15% de las muestras con Tg entre 50 y 200 mg/dl, en el 25% de las muestras con 200-300 mg/dl y en casi el 50% de las que contienen 300-400 mg/dl²⁵. Si los Tg son superiores a esta cifra, el cálculo del cLDL puede llegar a producir resultados negativos. Estos datos son fundamentales para la correcta valoración de la concentración de cLDL, el constituyente lipídico clave para el diagnóstico, la indicación y el control de la terapéutica de las dislipemias.

Apolipoproteínas A-I y B en plasma

La determinación de apoA-I y apoB se halla perfectamente estandarizada al existir unas preparaciones estándar de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que facilitan la equivalencia (“transferibilidad”) de los resultados entre los diferentes métodos; las variaciones de los valores de apoA-I y apoB entre diferentes poblaciones sólo dependen de los sujetos en que se mide y no de las metodologías.

Lipoproteína (a)

La Lp(a) es una forma modificada de la LDL que contiene una apolipoproteína adicional, la apo(a). La Lp(a) es rica en colesterol, pero su contribución al colesterol aterogénico [cVLDL, cIDL, cLDL, cLp(a)] es escasa, ya que no representa más del 5%.

La molécula de Lp(a) es compleja; la apo(a) es muy polimórfica y es la determinante de las concentraciones plasmáticas de Lp(a). Cuando en la apo(a) hay pocas copias de una molécula polipeptídica denominada kringle 4 tipo 2, las concentraciones plasmáticas aumentan y, con ellas, el riesgo cardiovascular, y viceversa. La mayor parte de métodos de medida de Lp(a)

son inmunoanálisis que utilizan anticuerpos contra la molécula completa o contra la apo(a)²⁶. La naturaleza de los anticuerpos y su capacidad para reconocer las repeticiones del kringle 4 tipo 2, así como su número, determinan la concentración de Lp(a) medida por los diferentes inmunoanálisis. A pesar de las numerosas fuentes de variación existentes para la determinación de Lp(a), en la bibliografía médica se ha consensuado una concentración > 300 mg/l como indicio de riesgo cardiovascular aumentado²⁶, aunque este valor es sólo indicativo. Cuando se disponga de un estándar internacional que permita homologar los resultados de los diferentes métodos, se podrá recomendar valores de referencia y validar estudios de relación entre Lp(a) y riesgo cardiovascular.

DETERMINACIONES ESPECIALIZADAS

Genotipos de la apoE

La apoE forma parte de las lipoproteínas ricas en Tg (quilomicrones y VLDL) y de sus respectivas partículas remanentes, así como de una subfracción minoritaria de las HDL. Su interacción con los receptores de LDL (receptor apoB, E, rLDL) o el LRP (*LDL-receptor related protein*) permite el aclaramiento de los remanentes de las lipoproteínas ricas en Tg. La apoE es genéticamente heterogénea. Las tres isoformas más comunes (apoE₂, apoE₃ y apoE₄) dan lugar a seis genotipos (tabla 3).

La homocigosis para la apoE₂ (genotipo E₂/E₂) es causa de la disbetalipoproteinemia, que se caracteriza por un incremento plasmático de las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). Sin embargo, la expresión fenotípica de la dislipemia sólo ocurre cuando concurren además determinados factores como obesidad, diabetes, hipotiroidismo o menopausia, entre otros. Los portadores del alelo E₄, por su parte, tienen concentraciones ligeramente aumentadas de colesterol²⁷. Este alelo también se ha asociado a las formas tardías de la enfermedad de Alzheimer²⁸. El gen de la apoE está situado en el cromosoma 19q13.2 y consta de 4 exones y 3 intrones²⁹. Las mutaciones afectan a la secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción (Cfo I), lo que permite detectar dichas mutaciones analizando el patrón de bandas generadas por la digestión con dicha enzima.

Subfracciones de lipoproteínas de baja densidad

La abundancia anormal de partículas LDL de menor tamaño y mayor densidad (tipo B) se denomina fenotipo B³⁰; estas partículas se hallan aumentadas en el síndrome metabólico, la hiperlipemia combinada o la dislipemia diabética. El fenotipo de LDL se puede identificar mediante diferentes técnicas³¹; la principal de ellas es la electroforesis. Existe un equipo comercial que permite medir de forma relativamente sencilla

TABLA 3. Frecuencia poblacional y afinidad por el receptor de los genotipos de apoE

Genotipo	Frecuencia (%)	Afinidad por el receptor (%)
E ₃ /E ₃	60	100
E ₃ /E ₄	22	100
E ₃ /E ₂	12	60
E ₄ /E ₄	3	100
E ₄ /E ₂	2	60
E ₂ /E ₂	1	1

hasta 7 subfracciones de LDL de diferente tamaño. El aislamiento de las diferentes subfracciones de LDL mediante ultracentrifugación en gradiente es una técnica más compleja y, por ello, menos utilizada; sin embargo, permite estudiar la composición de cada subfracción. La espectroscopia de resonancia magnética permite identificar en una misma muestra varias subfracciones de diferentes lipoproteínas: 6 de VLDL, 2 de LDL y 2 de HDL; en todo el mundo, esta técnica se realiza en un único laboratorio comercial³².

Defectos genéticos que se expresan como hipercolesterolemia familiar (HF)

En la denominación de HF se agrupan varias alteraciones genéticas que se manifiestan con un fenotipo de hipercolesterolemia aislada. La causa más frecuente de la HF son mutaciones en el gen que codifica para el receptor de las LDL³³. El gen *LDLR* (19 p13.3) presenta numerosas mutaciones (más de mil) que producen alteraciones en todas las fases del proceso celular del receptor LDL (rLDL). Al interaccionar con la molécula de apoB que se integra en las partículas LDL, el rLDL permite la entrada del colesterol circulante a las células; las mutaciones del gen que codifica para la apolipoproteína B (*APOB*) también producen hipercolesterolemia, y ambos defectos se heredan de forma autosómica dominante³³. También existen mutaciones que afectan a otras proteínas implicadas en el metabolismo del colesterol, como *CYP7A1* o *ARH*, y cuyo patrón de herencia es autosómico recesivo; sin embargo, entre el 80 y el 95% de las HF están causadas por mutaciones que se heredan de forma dominante como las de *LDLR* o el *APOB* (tabla 4). En nuestro país se ha desarrollado un sistema de *biochip* de ADN (o *DNA microarray*) de alta densidad, denominado Lipo-

TABLA 4. Frecuencia de las distintas formas de hipercolesterolemias familiares

	Frecuencia, %
Autosómicas dominantes	
Hipercolesterolemia familiar rLDL	75-85
ApoB-100 defectuosa familiar (muy variable)	1-15
FH 3 cromosoma 1p32 (NARC-1)	2-5
Autosómicas recesivas	
Colesterol 7-alfahidroxilasa (<i>CYP7A1</i>)	< 1
ARH	< 1
ABCG5/ABCG8	< 1

Tomado de Rader et al³³.

chip®, con el que se puede detectar las mutaciones más frecuentes del rLDL, la apoB e incluso apoE que se relacionan con hipercolesterolemia³⁴; con este sistema se puede diagnosticar HF sin recurrir a largos y tediosos procesos de secuenciación de los genes que la causan, algunos de los cuales se caracterizan por tener una región codificadora larga y muy fragmentada. Dado que el sistema no está comercialmente disponible para los laboratorios clínicos y requiere una inversión importante en infraestructura, su uso por ahora se halla muy restringido, aspecto que no favorece el uso habitual de esta tecnología. Un aspecto favorable es que cuando el *biochip* de ADN permite reconocer la mutación presente en el caso índice de una familia con HF, se puede utilizar análisis más simples y baratos, como la digestión con enzimas de restricción, dirigidos a la búsqueda de la mutación identificada en el resto de los miembros de la familia; este hecho abarata notablemente la identificación de portadores de HF.

Remanentes de las lipoproteínas ricas en triglicéridos

Se ha demostrado una relación entre los remanentes (procedentes de la metabolización de las partículas originales) de las lipoproteínas ricas en Tg (LRT) (quilomicrones, VLDL) y la arteriosclerosis³⁵. La valoración de los remanentes de las LRT es difícil, ya que se trata de partículas difíciles de diferenciar de sus precursores (quilomicrones y VLDL); tienen un catabolismo rápido y, en consecuencia, una baja concentración circulante. Son, además, muy heterogéneas, al producirse por diferentes procesos y en diferentes momentos metabólicos. Las LRT de menor tamaño se han relacionado con la arteriosclerosis. Los métodos para su identificación y/o cuantificación se desarrollan en dos etapas. La primera es su aislamiento por diferentes técnicas; la segunda, la medición de su contenido en colesterol y Tg. La etapa de separación se ha realizado mediante diversos métodos. El primero de ellos es la ultracentrifugación en gradiente de densidad, la técnica de referencia para la separación de las lipoproteínas; los remanentes de las LRT se localizan en el rango de densidad ($1,006 < d < 1,019$ kg/l) de las IDL. También se las ha separado e identificado mediante otras técnicas, como electroforesis y análisis de apolipoproteínas específicas (apoB-48 y apoC-III). Todas estas técnicas son altamente complejas; la única aplicable por laboratorios no especializados es un método basado en la utilización de anticuerpos contra la apoA-I y la apoB, que forman inmunocomplejos con los quilomicrones, VLDL de mayor tamaño, HDL y LDL y, de esta manera, permiten medir el colesterol y los Tg de los remanentes de las LRT de menor tamaño³⁶.

Apolipoproteínas C-II y C-III

Las apoC-II y apoC-III desempeñan un papel importante en el catabolismo de las LRT. La apoC-II es el cofactor de la lipoproteinlipasa, que metaboliza las

LRT, y la apoC-III inhibe esta actividad enzimática. Ambas apolipoproteínas se encuentran mayoritariamente en los quilomicrones y las VLDL y en menor proporción en HDL e IDL. Existen métodos inmunológicos para medir la concentración circulante de la apoC-II y la apoC-III, alguno de ellos comercializado. Sin embargo, no existe ningún estándar internacionalmente aceptado que homologue los resultados de los diferentes métodos y no se conoce exactamente la especificidad de los anticuerpos utilizados en los análisis; en consecuencia, no existe un valor de referencia para definir los incrementos de ambas. Con los métodos actualmente disponibles sólo puede confirmarse la deficiencia genética de apoC-II.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rifai N, Warnick GR, Dominiczack MH, editores. Handbook of lipoprotein testing. 2.a ed. Washington: AACC Press; 2000.
2. Taskinen MR, Nikkila EA, Valimäki M, Sane T, Kuusi T, Kesäniemi A, et al. Alcohol-induced changes in serum lipoproteins and in their metabolism. *Am Heart J*. 1987;113:458-64.
3. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ*. 1989;298:784-8.
4. Zock PL, Katan MB, Merkus MP, Van Dusseldorp M, Harryvan JL. Effect of a lipid-rich fraction from boiled coffee on serum cholesterol. *Lancet*. 1990;335:1235-7.
5. Yu-Poth S, Zhao G, Etherton T, Naglak M, Jonnalagadda S, Kris-Etherton PM. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:632-46.
6. Gómez Gerique JA, Gutiérrez Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, et al. Perfil lipídico de la población española: estudio DRECE (Dieta y Riesgo de Enfermedad Cardiovascular en España). *Med Clin (Barc)*. 1999;113:730-5.
7. Strobl W, Widhalm K. The natural history of serum lipids and lipoproteins during childhood. *Prog Clin Biol Res*. 1985;188:101-21.
8. Cooper GR, Myers GL, Smith SJ, Sampson EJ. Standardization of lipid, lipoprotein, and apolipoprotein measurements. *Clin Chem*. 1988;34:B95-105.
9. Swain DP, Franklin BA. Comparison of cardioprotective benefits of vigorous versus moderate intensity aerobic exercise. *Am J Cardiol*. 2006;97:141-7.
10. Tucker LA, Friedman GM. Walking and serum cholesterol in adults. *Am J Public Health*. 1990;80:1111-3.
11. Reichel R, Widhalm K. Lipids and lipoproteins during pregnancy. *Prog Clin Biol Res*. 1988;255:125-33.
12. Panteghini M, Pagani F. Serum concentrations of lipoprotein(a) during normal pregnancy and postpartum. *Clin Chem*. 1991;37:2009-10.
13. Young DS, Friedman RB, editores. Effects of disease on clinical laboratory tests. 4.ª ed. Washington: AACC Press; 2001.
14. Guyton JR, Dahlen GH, Patsch W, Kautz JA, Gotto AM Jr. Relationship of plasma lipoprotein Lp(a) levels to race and to apolipoprotein B. *Arteriosclerosis*. 1985;5:265-72.
15. Young DS, editor. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 5.ª ed. Washington: AACC Press; 1997.
16. Berenson GS, Srinivasan SR, Cresanta JL, Foster TA, Webber LS. Dynamic changes of serum lipoproteins in children during adolescence and sexual maturation. *Am J Epidemiol*. 1981;113:157-70.

17. Bittner V. Lipoprotein abnormalities related to women's health. *Am J Cardiol.* 2002;90:177-84.
18. Zarraga IGE, Schwarz ER. Impact of dietary patterns and interventions on cardiovascular health. *Circulation.* 2006;114:961-73.
19. Ortola J, Castineiras MJ, Fuentes-Arderiu X. Biological variation data applied to the selection of serum lipid ratios used as risk markers of coronary heart disease. *Clin Chem.* 1992;38:56-9.
20. Hortin GL, Cole TG, Gibson DW, Kessler G. Decreased stability of triglycerides and increased free glycerol in serum from heparin-treated patients. *Clin Chem.* 1988;34:1847-9.
21. Jenssen RH, Dass CJ, Eckfeldt JH. Do enzymatic analyses of serum triglycerides really need blanking for free glycerol? *Clin Chem.* 1990;36:1372-5.
22. Cole TG. Glycerol blanking in triglyceride assays: is it necessary? *Clin Chem.* 1990;36:1267-8.
23. Bachorick PS, Ross JW; for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program recommendations for the measurement of low-density lipoprotein cholesterol: Executive summary. *Clin Chem.* 1995;41:1414-20.
24. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.
25. McNamara JR, Cohn JS, Wilson PW, Schaefer EJ. Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin Chem.* 1990;36:36-42.
26. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on lipoprotein(a) and cardiovascular disease: Recent advances and future directions. *Clin Chem.* 2003;49:1785-96.
27. Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet.* 1985;37:268-85.
28. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:1977-81.
29. Das HK, McPherson J, Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL. Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J Biol Chem.* 1985;260:6240-7.
30. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation.* 1990;82:495-506.
31. Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol.* 1994;5:395-403.
32. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW, Krauss RM. Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin Chem.* 1992;38:1632-8.
33. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: New insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest.* 2003;111:1795-803.
34. Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, the Spanish FH Group. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing Familial Hypercholesterolemia. *Clin Chem.* 2005;51:1137-44.
35. Twickler TB, Dallinga-Thie GM, Cohn JS, Chapman MJ. Elevated remnant-like particle cholesterol concentration. A characteristic feature of the atherogenic lipoprotein phenotype. *Circulation.* 2004;109:1918-25.
36. Nakajima K, Saito T, Tamura A, Suzuki M, Nakano T, Adachi M, et al. Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-I immunoadfinity mixed gels. *Clin Chim Acta.* 1993;223:53-71.