

**CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES LIPÍDICOS DE LAS  
DIFERENTES SUBFRACCIONES DE HDL EN PLASMA**

**STEVENSON GALLO OSPINA**

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO**

**FACULTA CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**ARMENIA QUINDÍO**

**2020**

**CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES LIPÍDICOS DE LAS  
DIFERENTES SUBFRACCIONES DE HDL EN PLASMA**

**STEVENSON GALLO OSPINA**

**“TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR  
AL TÍTULO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOMÉDICAS”**

**DIRECTOR:**

**PhD. PATRICIA LANDÁZURI**

**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO  
FACULTA CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS  
ARMENIA QUINDÍO**

**2020**

## **DEDICATORIA**

*A mi familia que han representado una fortaleza, mi motivo de vida para alcanzar todos y cada uno de mis propósitos, especialmente mi hijo y mi esposa quienes siempre han creído en mí, me han apoyado y vivido los altibajos, aciertos y fracasos que me ha presentado la vida. A mi madre que aún que ya no está entre nosotros siempre estará en mi corazón como el ser más hermoso y la bendición más valiosa que Dios me ha dado, ella que siempre estuvo motivándome con sus palabras y ejemplos de fortaleza, esfuerzo y compromiso. A mi padre y hermana por su confianza y apoyo a cada una de mis decisiones donde siempre conté con un acertado consejo, dedico este trabajo a ustedes devolviendo una pequeña parte en gratitud a todo lo que me han brindado de forma desinteresada, pero sobre todo con todo el amor. A mi tutora por colocar a mi disposición todo su talento y vasto conocimiento, con la mayor paciencia que se pueda tener, lo cual me permitió culminar esta etapa de crecimiento profesional. A mi amigo, hermano y compañero de vida Johanny Aguilón Osma por ser un ejemplo de profesionalismo que nunca se guardó palabras de apoyo y conocimiento. Finalmente, a Dios por sus bendiciones, a toda mi familia, amigos y compañeros, ellos son mi inspiración y estímulo para alcanzar mis metas y éxitos de vida.*

*Stevenson Gallo Ospina.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios que con su infinito amor y sabiduría nos permite dar cada paso de mi vida y lograr alcanzar con éxito nuestras metas.*

*A la doctora patricia Landázuri por su apoyo incondicional y el acompañamiento en este proyecto*

*A la Universidad del Quindío.*

*Al programa de maestría en Ciencias Biomédicas de la Universidad del Quindío.*

*Al grupo de investigación en enfermedades cardiovasculares y metabólicas (GACAVYME) de la Universidad del Quindío por sus aportes en este proyecto.*

*A mis compañeros Johanny Aguillón, Cristian Fernando Lizalda, especialmente a Eliana Soto y profesores que hicieron de esta etapa algo enriquecedor, aportando de su ser y conocimiento para lograr los objetivos trazados.*

*Al señor rector de la institución Policarpa Salavarrieta Henry Antonio Mesa Idarraga por su apoyo y colaboración constante y sabios consejos.*

*A mis compañeros de trabajo Osmar Leandro Muños, John Faber Arredondo, Javier Loaiza Martínez y Angie Stefany Arias por su amistad, confianza y ejemplo, y a mis estudiantes del colegio que estuvieron pendiente y preocupados por mi proceso.*

*Stevenson Gallo Ospina.*

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Lista de figuras .....	VII
Lista de tablas .....	VIII
RESUMEN.....	IX
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1 Perfil lipídico .....	5
2.2 Lipoproteínas .....	5
2.3 Subfracciones de HDL .....	9
3. ESTADO DEL ARTE .....	11
4. OBJETIVOS .....	14
4.1 Objetivo general.....	14
4.2 Objetivos específicos .....	14
5. METODOLOGÍA .....	15
5.1. Población de estudio .....	15
5.2 Toma de la muestra .....	15
5.3 Cuantificación de lípidos.....	15
5.3.1 Cuantificación de triglicéridos .....	15
5.3.2 Cuantificación de colesterol .....	15
5.3.3 Cuantificación de HDL total .....	16
5.3.4 Separación de las subfracciones de HDL .....	16
5.4 Determinación de las proteínas de las subfracciones de HDL .....	17
5.4.1 Separación de las proteínas de las subfracciones HDL en gel .....	17

5.4.2 Cuantificación de las proteínas de las subfracciones HDL en gel .....	17
5.5 Caracterización de los lípidos de las subfracciones de HDL.....	17
5.5.1 Determinación del colesterol de las subfracciones de HDL en los geles.....	17
5.5.2 Determinación de los triglicéridos de las subfracciones de HDL en los geles.....	18
5.6 Análisis estadístico.....	19
6. RESULTADOS .....	21
7. DISCUSIÓN .....	25
8. CONCLUSIONES.....	28
9. RECOMENDACIONES.....	29
10. AGRADECIMIENTOS.....	30
11. BIBLIOGRAFÍA.....	31
12. ANEXOS .....	36

## Lista de Figuras

Figura 1. Metabolismo del colesterol y las lipoproteínas involucradas. Fuente propia.

Figura 2. Patrón electroforético de las subfracciones de HDL: **a.** Separación de las proteínas de las subfracciones de HDL. **b.** Corrido enzimático de colesterol en las subfracciones de HDL.

Figura 3. Patrón electroforético de las subfracciones de HDL: **a.** Separación de las proteínas de las subfracciones de HDL. **b.** Corrido enzimático de triglicéridos en las subfracciones de HDL.

Figura 4. Colesterol y triglicéridos de las subfracciones HDL.

## **Lista de Tablas**

Tabla 1. Características antropométricas de la muestra poblacional.

Tabla 2. Perfil lipídico de la muestra poblacional.

Tabla 3. Caracterización lipídica de las subfracciones de HDL.

## RESUMEN

Diversos estudios epidemiológicos han evidenciado la influencia que poseen algunas lipoproteínas en la aparición de enfermedades cardiovasculares y en sus manifestaciones clínicas; la asociación inversa entre el colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la enfermedad cardiovascular direccionó la investigación hacia la comprensión de los principios genéticos y bioquímicos del metabolismo, regulación y función de esta lipoproteína. La estrategia se enfocó entonces en aumentar las concentraciones de HDL, bajo la hipótesis que su aumento, disminuiría el riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, a pesar de lograr aumentar las HDL no se logró disminuir la morbimortalidad de las enfermedades cardiovasculares. Dicho fracaso, indicó, que el metabolismo de los lípidos no es tan sencillo como variar su concentración en plasma y que es necesario entender la integralidad del mismo. De aquí surge el objetivo de este trabajo, el cual consistió en caracterizar los componentes lipídicos en las diferentes subfracciones de HDL.

Se evaluó una muestra de 10 hombres, los cuales manifestaron en el consentimiento informado no haber sido diagnosticados con alguna enfermedad, presentar buenos hábitos alimentarios y de actividad física y no encontrarse en tratamiento para dislipidemia. Se cuantificó el perfil lipídico por métodos enzimáticos y se determinaron las concentraciones de colesterol y triglicéridos presentes en las subfracciones HDL2 y HDL3 por zimografía en geles de poliacrilamida.

Los resultados indican que el perfil lipídico en promedio, el colesterol y los triglicéridos se encuentran dentro de los valores de referencia normales. Sin embargo, se encontró individuos que presentaban valores de colesterol y triglicéridos por encima de los valores normales de referencia o cercanos al límite alto. Por otra parte, las concentraciones de LDL en promedio tuvieron un valor de 106,7 mg/dL, siendo este un valor superior al rango de referencia óptimo (hasta 100 mg/dL), lo anterior descrito, indica que los sujetos de estudio, presentan un leve riesgo de síndrome metabólico.

La cuantificación de los lípidos por zimografía en geles de poliacrilamida mostraron un mayor contenido de colesterol y triglicéridos de 21,8 mg/dL y 14,1 mg/dL, respectivamente, en las

subfracciones HDL3, comparada con las HDL2 las cuales fueron 10,9 mg/dL para colesterol y 6,8 mg/dL para triglicéridos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,0001$ ). Por otro lado, el colesterol presentó mayor concentración que los triglicéridos en las subfracciones HDL, alcanzando una proporción del 61% sobre la concentración total de lípidos analizados. Los resultados confirman que las subfracciones de HDL poseen diferencias significativas en su composición lipídica; este conocimiento es importante ya que contribuye a esclarecer el comportamiento de las HDL, con relación a su efecto protector frente al riesgo cardiovascular; no obstante, es necesario profundizar en esclarecer la relación estructura y función de las HDL en la enfermedad cardiovascular.

## 1. INTRODUCCIÓN

Estudios experimentales y epidemiológicos han demostrado la relevancia de los lípidos y las lipoproteínas, en particular, el colesterol de baja densidad (c-LDL), en la génesis de la aterosclerosis y en sus manifestaciones clínicas (1); a raíz de este conocimiento se alcanzó un alto desarrollo en investigación e innovación de medicamentos para reducir estas lipoproteínas, generando ganancias millonarias en la industria farmacéutica, así como también logros en una mejor salud de los individuos. Sin embargo, se ha evidenciado que esta estrategia de tratamiento (disminuir el c-LDL) no es suficiente para el control de las enfermedades cardiovasculares puesto que su prevalencia e incidencia siguen en aumento.

Evidencia acumulada mostró que también otros lípidos y su metabolismo eran definitivos en la génesis de la aterosclerosis (2); se ha demostrado una asociación inversa entre el colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (también llamado colesterol "bueno") y la enfermedad cardiovascular, lo cual dirigió la investigación hacia el entendimiento de las bases genéticas y bioquímicas del metabolismo, regulación y función de esta lipoproteína, con la idea de desarrollar agentes terapéuticos que pudieran aumentar su concentración plasmática. En este sentido, la identificación de la proteína transportadora de esteres de colesterol (CETP), enzima clave en el transporte reverso de colesterol y que modula los niveles plasmáticos de las HDL (3), llevó de inmediato al desarrollo de inhibidores de la enzima, para lograr aumentos sustanciales; de estas lipoproteínas, bajo el supuesto teórico, y basados en la relación inversa encontrada y soportada por un amplio cuerpo de evidencia, que un aumento de las HDL, disminuirá el riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, y a pesar de aumentar significativamente las HDL en terapias combinadas, estos inhibidores no lograron disminuir la morbimortalidad causada por las enfermedades cardiovasculares; el fracaso de esta estrategia, fue una contundente demostración que indicaba que intervenir la salud cardiovascular a través del metabolismo de los lípidos, no es tan sencillo como aumentar o disminuir su concentración en plasma y que es necesario entender la integralidad del mismo (4).

El entendimiento de la estructura y función de las HDL y de su papel en la protección frente al desarrollo de la aterosclerosis, es crítico para la implementación de terapias y tratamientos en el ser humano. En este sentido, se ha avanzado bastante, en la actualidad se conoce que las HDL representan una variedad de lipoproteínas funcionales de partículas complejas de lípidos y proteínas con densidades que varían entre 1,05 a 1,21 g/mL; difiriendo ampliamente en términos de tamaño, forma

y composición lipídica (5). En términos generales, las HDL son partículas pequeñas, densas y ricas en proteínas en comparación con otras clases de lipoproteínas, aproximadamente la mitad de la masa total de las HDL es explicada por sus componentes lipídicos, siendo los fosfolípidos los predominantes representando entre el 40 – 60% del total de los lípidos, con menores proporciones de ésteres de colesterol (30 – 40%), triglicéridos (5 – 12%) y colesterol libre (5 – 10%) (6). Estudios proteómicos muestran que las HDL tienen asociadas más de 80 proteínas distintas (7), sin embargo, se presume que la presencia de éstas en las lipoproteínas depende de su función y del estado metabólico del individuo. Por ejemplo, la apolipoproteína A-I, (apoA-I), es la proteína más común y abundante de todas las proteínas constituyentes de las HDL, con cerca del 70%, mientras la apo AII le sigue con 15% al 20%, el resto entre 10-15% corresponden a otras apo (apoC, apoE, apoD, apo J, apo-AIV) y a algunas enzimas importantes en su metabolismo, como la lecitin colesterol acil-transferasa (LCAT) y la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) (7).

La cantidad y calidad de lípidos y Apolipoproteínas varía durante la circulación de las lipoproteínas en sangre, dando como resultado diferentes subclases de HDL, las cuales se pueden clasificar de acuerdo a su forma, densidad y tamaño; dicha clasificación depende del método que se utilice para caracterizarlas y separarlas. La ultracentrifugación es uno de los primeros métodos utilizados, brinda bastante sensibilidad, pero su costo es alto debido al precio del equipo y al tiempo que consume el proceso; Posteriormente, aparecieron los métodos de precipitación para separar las HDL en dos subfracciones principales HDL2 y HDL3 (8). La HDL2 o HDL esférica, es una partícula menos densa (1,063-1,125 g/mL), enriquecida con colesterol libre, fosfolípidos y ApoA-I y la HDL3 o discoidal, es una partícula más densa (1,125 -1,210 g/mL) y pequeña, relativamente rica en proteínas, con un centro formado por ésteres de colesterol y pequeñas cantidades de triglicéridos (9). También se conocen otras formas de separar y analizar las subfracciones como son la electroforesis en dos dimensiones y la resonancia magnética nuclear entre otros (8).

Las diversas subfracciones de HDL se generan en el plasma, inicialmente se sintetizan y secretan desde el hígado y el intestino como partículas nacientes de pre- $\beta$  HDL, formadas predominantemente por apoA-I y fosfolípidos. En la circulación le son adicionados más fosfolípidos, colesterol y otras apoproteínas minoritarias formándose así las diversas subfracciones de HDL, altamente heterogéneas (10). En el plasma las HDL2 y HDL3, se intercambian entre sí, de modo que las partículas nacientes de HDL de hígado o intestino, reciben en la circulación fosfolípidos, colesterol y otras apoproteínas minoritarias desde las LDL y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) convirtiéndose en HDL3; las HDL2 son generadas también a partir de las HDL3 cuando los triglicéridos hidrolizados por la lipoproteína lipasa (LPL) son esterificados al colesterol por la LCAT, activada por la apoA-I,

y subsecuentemente transferidos al centro de la lipoproteína contribuyendo al alargamiento (forma discoidal) de esta subpartícula (11). De manera inversa las HDL3 también son formadas cuando los triglicéridos de las HDL2 son hidrolizados por la lipasa hepática (HL). La manera como el tipo de subfracciones, así; como el contenido de las mismas se relacionan con enfermedad cardiovascular no es clara, de hecho, hay evidencia contradictoria que relaciona una u otra subfracción con ECV; estudios realizados por nuestro grupo de investigación, asocian bajos niveles de HDL2 con riesgo cardiovascular (12). Esta contradicción posiblemente se deba a la diferencia en los métodos de precipitación (ultra centrifugación, electroforesis o precipitación iónica), y a los tipos y tamaños de las poblaciones estudiadas. Diferente a la evidencia contradictoria sobre el papel de las subfracciones, sí hay consenso sobre el papel de la oxidación en la génesis de la aterosclerosis, así, se ha demostrado que las LDL oxidadas desencadenan una serie de eventos celulares que terminan en la formación de estrías grasas y activación de macrófagos entre otros eventos (13).

La actividad antioxidante de las HDL parece radicar no solo en el contenido de sus lípidos sino en las enzimas y apoproteínas involucradas en su metabolismo y remodelación, incluyendo la LCAT, la acetil hidrolasa-factor activador de plaquetas, (PAF-AH), fosfolipasa A2, la paraoxonasa 1 (PON1) y la glutatión seleno peroxidasa (GSPx), que pueden evitar la oxidación de los lípidos en las LDL (14). Cuando las HDL pierden su capacidad de evitar la oxidación de las LDL son llamadas pro inflamatorias, por este motivo las HDL son conocidas como las lipoproteínas camaleón porque pueden pasar de un estado antiinflamatorio a un estado pro inflamatorio dependiendo de la situación del organismo; por ejemplo, en la respuesta inflamatoria de fase aguda se ha encontrado que las HDL reducen su contenido en paraoxonasa, y tienen propiedades pro inflamatorias (15); y en la hipótesis de la oxidación como génesis de la aterosclerosis, las HDL pueden ser crónicamente pro inflamatorias como ha sido demostrado en varios estudios (16–18). Estos datos señalan a las HDL como un posible biomarcador de susceptibilidad de la aterosclerosis, pero también como un biomarcador para estudio, seguimiento y dosificación de medicamentos potenciales o en uso, y por supuesto como un blanco terapéutico no solo para lograr un incremento sustancial, sino para lograr la modulación y el intercambio entre una y otra subpoblación permitiendo el equilibrio que ha sido alterado en respuesta a la enfermedad (4).

Por lo anterior y dada la complejidad del metabolismo de las HDL, la idea de desarrollar medicamentos para lograr su aumento *per se*, y disminuir la enfermedad cardiovascular es improbable bajo la premisa de un HDL total; La nueva mirada debe incluir además de estudios poblacionales, la estandarización de métodos para medir y caracterizar las subfracciones de HDLs, establecer relaciones de estas con riesgo cardiovascular, establecer cómo y por qué las variaciones en estas

subfracciones confieren o no protección cardiovascular y cómo modular su metabolismo en beneficio del ser humano. Asimismo, hasta donde se conoce, ningún estudio en Colombia ha caracterizado la composición de lípidos y proteínas de las subfracciones de HDL, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la composición lipídica, es decir, determinar la concentración de colesterol y triglicéridos en las diferentes subfracciones de HDL en una muestra poblacional aparentemente sana, mediante un método económico y accesible, como lo es la precipitación por sales y la zimografía.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Perfil lipídico**

En un entorno clínico, el perfil lipídico es utilizado como un importante marcador de predicción de enfermedad cardiovascular, en él se incluyen los valores plasmáticos de colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos. Un evento considerado particularmente alarmante, es presentar niveles elevados de lípidos en plasma debido a su amplia relación documentada con la aparición y progresión de enfermedad coronaria, aterosclerosis, hipertensión, entre otras enfermedades cardiovasculares; las principales evidencias apoyan el papel del colesterol total y el colesterol LDL, señalando que, la reducción de ambos reducen considerablemente el riesgo de mortalidad (19). Por otra parte, niveles bajos de HDL son considerados como un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular (20), lo que implica que el colesterol HDL es considerado como un factor protector frente a la enfermedad, aunque este papel es más complejo y se han sugerido otros roles de importancia en salud vascular (2,14).

Un aspecto a destacar es que, los intervalos de referencia para estos marcadores bioquímicos son necesarios para establecer el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, su monitoreo y seguimiento, pero aún más importante, para decidir cuándo se considera un estado de alerta; ese es un problema desde el punto de vista epidemiológico, para el caso del perfil lipídico en nuestra población, debido a que los valores de referencia han sido establecidos en otras poblaciones con características que afectarían significativamente los resultados como: métodos de medición, el género, la edad, la etnia, y los factores ambientales como la dieta y la actividad física (21). En particular, en el 2016, se reportaron los intervalos biológicos de referencia (IBR) del perfil lipídico en una población de adultos sanos de Colombia, indicando los siguientes valores: el colesterol total fue de 152,5 – 162,1 mg/dL; triglicéridos 99,2 – 110,9 mg/dL; LDL de 74,2 – 81,4 mg/dL y HDL de 55,4 – 61,6 mg/dL; del mismo modo, señalaron que tanto el colesterol total como el HDL, son mayores en mujeres que en hombres, y que el perfil lipídico aumentaba con la edad (22).

### **2.2. Lipoproteínas**

Las lipoproteínas tienen como función transportar los lípidos que se encuentran circulando en el plasma. Son complejos macromoleculares solubles conformados por un núcleo hidrofóbico compuesto de lípidos no polares, generalmente triglicéridos y ésteres de colesterol, recubiertos por una superficie hidrofílica constituida por diversas proteínas (apolipoproteínas), en asociación con

lípidos más polares, tales como colesterol libre y fosfolípidos (23). Asociadas a las lipoproteínas existen además enzimas y proteínas transportadoras de lípidos, que intervienen en su transformación a lo largo del metabolismo lipídico y en el cumplimiento de sus diferentes actividades fisiológicas.

La clasificación de las lipoproteínas está determinada principalmente por el contenido de colesterol y triglicéridos, así como por el tipo de apolipoproteína mayoritaria; lo cual afecta su tamaño, naturaleza y densidad, esta característica final es la que permite su clasificación en:

#### Quilomicrones:

Constituyen las partículas lipoprotéicas más grandes y menos densas (con una densidad menor a 1 g/mL), con menos proporción proteica y con un gran componente lipídico, enriquecido de triglicéridos. Estas lipoproteínas contienen diversas apolipoproteínas, incluyendo apo B-48, apo A-I, apo C-II, apo C-III y apo E. La principal función de los quilomicrones es aportar a los tejidos los lípidos obtenidos de la ingesta, principalmente triglicéridos. Estos triglicéridos, luego de su hidrólisis en el intestino, son absorbidos como ácidos grasos y reesterificados de nuevo, para ser empaquetados en forma de quilomicrones y luego secretados a la linfa desde los enterocitos, para ser llevados por la sangre a los tejidos para obtención de energía (tejido muscular) o para almacenarlos (tejido adiposo). Para su catabolismo, se necesita la acción de la lipoproteína lipasa (LPL), la cual es una enzima que se encuentra en los capilares de los tejidos muscular y adiposo y que cataliza la hidrólisis de los triglicéridos de los quilomicrones liberando ácidos grasos. Como consecuencia de este proceso, los quilomicrones van reduciendo su tamaño y pasan a ser captados por receptores hepáticos que reconocen la apo E (24,25).

#### Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL):

Son también partículas grandes, poco densas (densidad menor a 1,006 g/mL) y muy ricas en triglicéridos. También tienen una composición apolipoprotéica similar a los quilomicrones, salvo en dos aspectos esenciales: no contienen apo A-I y presentan la forma completa de apo B (apo B-100) porque en el hígado, lugar donde ocurre su síntesis, no se expresa la enzima editora de la apo B. La apo B-100 es la proteína estructural de VLDL y de las lipoproteínas que se sintetizan en buena parte a partir de su catabolismo: IDL y LDL y Lp(a). El principal estímulo para la síntesis de VLDL parece ser la captación y el catabolismo de quilomicrones residuales por parte del hígado. La principal función de las VLDL es, de forma análoga a la de los quilomicrones, el transporte de triglicéridos y su suministro (en forma de ácidos grasos) a los tejidos muscular y adiposo. La liberación de

triglicéridos de las VLDL las hace más pequeñas, con una relación más pareja en su contenido en colesterol y triglicéridos y con una mayor densidad (24).

Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL):

Poseen una densidad menor a 1,019 g/mL y mayor de 1,006 g/mL. Son un grupo minoritario de lipoproteínas que, tienen una composición apolipoprotéica similar a las de VLDL. Estas lipoproteínas son, sin embargo, más pequeñas y densas, presentando una menor proporción relativa de triglicéridos respecto al colesterol, como corresponde a su origen mayoritario como producto de la lipólisis de las VLDL. Se cree que aproximadamente la mitad de las partículas de IDL son capturadas a nivel hepático por receptores que reconocen apo E, mientras que la otra mitad son convertidas en LDL mediante un proceso complejo en el que interviene la lipasa hepática (LH) (25).

Lipoproteínas de baja densidad (LDL):

Son lipoproteínas con densidad entre 1,019 -1,063 g/mL; se caracterizan por su contenido en apo B-100 y tienen como componente lipídico mayoritario los ésteres de colesterol. La función de las LDL es el suministro de colesterol a las células, incluyendo tejidos periféricos e hígado. Las LDL son reconocidas por los receptores de LDL situados en la membrana plasmática que reconocen apo B-100 y apo E. Luego del reconocimiento, se produce la endocitosis y el contenido proteico y lipídico de las LDL es hidrolizado hasta formar aminoácidos y colesterol no esterificado.

El colesterol no esterificado en altas concentraciones es tóxico para las células, por lo tanto, debe ser utilizado para síntesis de membranas o de hormonas esteroideas o convertido por la enzima acil-colesterol aciltransferasa (ACAT) en ésteres de colesterol, para que puedan ser guardados como reservorio celular de colesterol. Las células también pueden sintetizar de colesterol de *novo* a través de una larga vía de síntesis endógena que tiene como punto crítico de regulación el paso de hidroximetilglutaril CoA (HMGCoA) a mevalonato, el cual es catalizado por la enzima HMGCoA reductasa. Los niveles de colesterol no esterificado intracelular regulan de forma coordinada los 2 sistemas de síntesis de colesterol, asegurando así su coordinación y evitando un exceso de colesterol intracelular. La expresión y la funcionalidad adecuadas de los receptores de LDL son un factor determinante importante de la concentración de LDL sérico (26).

Lipoproteínas de alta densidad (HDL):

Como su nombre lo indica, son las lipoproteínas de mayor densidad (con densidades que oscilan entre 1,0063 - 1,21 g/mL), se caracterizan por su contenido en apo A-I, teniendo también como componente

principal los ésteres de colesterol. Su síntesis depende, por una parte, del catabolismo de las partículas ricas en triglicéridos (quilomicrones y VLDL) y, por otra parte, de la síntesis de apo A-I, en un principio no asociada a lípidos, por parte del hígado y del intestino. La más conocida de las funciones de las HDL es el transporte reverso de colesterol, aunque posee otras funciones, como la inhibición de la modificación oxidativa de las LDL o su capacidad antiinflamatoria y antitrombótica, parecen ser también altamente relevantes (14). La función de las HDL depende en buena parte de su contenido de apo A-I, su principal apolipoproteína. Esta apolipoproteína facilita la salida del exceso de fosfolípidos y colesterol intracelular a través de mecanismos específicos que requieren consumo de energía. Este paso, conocido como eflujo, depende de su interacción con transportadores de tipo ATP-*binding cassette* A1 y G1 (ABCA1 y ABCG1) (27). También existe, en menor grado, eflujo de colesterol de células periféricas a través del receptor *sca-venger receptor* B-I (SR-BI). Posteriormente, el colesterol HDL obtenido del eflujo celular pasará a ser esterificado por el enzima lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT), que también necesita de la presencia de apo A-I como cofactor. El aumento de colesterol esterificado en el núcleo de las HDL irá aumentando el tamaño y redondeando la forma de las HDL, hasta que finalmente su contenido en ésteres de colesterol será liberado a los hepatocitos tras interactuar con SR-BI. El colesterol captado de esta forma puede llegar a ser eliminado por la bilis y las heces. Alternativamente, el colesterol puede ser convertido, a nivel hepático, en ácidos biliares, siendo estos eliminados por vía biliar y fecal si no son antes reabsorbidos a nivel intestinal. Dado que el colesterol no puede ser degradado por el organismo, el transporte reverso de colesterol es la única vía conocida de eliminación de colesterol de nuestro organismo (24).

Es importante señalar que en los seres humanos la lipoproteína mayoritaria es la LDL; también se produce una transferencia no específica de colesterol entre diversos tipos de lipoproteínas, en un proceso que es catalizado por la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP). El resultado final de su acción depende de la concentración de las diferentes lipoproteínas y de su tiempo de vida media, siendo la transferencia de colesterol de HDL a LDL y VLDL, y de triglicéridos de VLDL a HDL (27).

Existe una clara relación de tipo directo, a nivel poblacional, entre el tamaño de las partículas de HDL y la concentración de colesterol HDL. Existen diferentes enfermedades hereditarias por deficiencia de HDL que son debidas a mutaciones en algunos genes como: *ABCA1*, *APOA1* y *LCAT*. Así mismo, también existen alteraciones hereditarias que causan aumento de HDL, como son las debidas a mutaciones en el gen de la *CETP* (28).

### **2.3. Subfracciones de la HDL**

La calidad y cantidad de lípidos y apoproteínas varían dando como resultado diferentes subclases de HDL, las cuales pueden ser diferenciadas por forma, carga, densidad y tamaño, dependiendo del método utilizado. Las subfracciones de HDL pueden ser separadas por diferentes técnicas con base en sus propiedades fisicoquímicas o su composición, y por precipitación selectiva las HDL pueden clasificarse en HDL2 y HDL3; cada una de estas subfracciones poseen distintas funciones en el transporte y metabolismo del colesterol y los triglicéridos, por lo tanto a cada una de ellas se les ha asociado relaciones de beneficio o riesgo frente a las enfermedades cardiovasculares, dependiendo de su concentración, de su composición de apo A o de los lípidos que transporta (29).

Con relación a las subfracciones de HDL, se han observado mayor actividad antioxidante en las HDL3, las cuales son más pequeñas y densas, y presentan un mayor contenido de enzimas que participan en su función antioxidante tales como la paraoxonasa 1 (PON1), la acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas (PAF-AH), la LCAT; mientras las HDL2 son menos densas más grandes y con una mayor proporción de apo E, apo C-I, apo C-II y apo C-III (8). La participación de las HDL en el transporte reverso del colesterol, conlleva a una remodelación intravascular continua, permitiendo su heterogenicidad. Las partículas de HDL pueden ser originadas tanto del intestino por síntesis exógena como desde el hígado (síntesis endógena). La HDL hepática en forma naciente, aparece como una estructura en forma de disco, mientras que la HDL intestinal es más esférica y con una composición proteica más variada. Ambas partículas son relativamente pequeñas y pobres en colesterol, características que se consideren como HDL3. Gracias a la interacción con la LCAT y la LPL, el contenido de esteres de colesterol es incrementado y la partícula se vuelve más densa y más grande, convirtiéndose en HDL2 (27). La figura 1, resume el metabolismo del colesterol y la participación de las subfracciones de HDL en su transporte reverso hacia el hígado para su excreción.



### 3. ESTADO DEL ARTE

Se ha reportado a las HDL como factor protector frente a la aterogénesis y la evidencia que esta lipoproteína está relacionada con la reducción del riesgo de sufrir diabetes ha aumentado en los últimos años, sin embargo, el valor predictivo que brindan las HDL por si solas no es muy alto; pero la diferencia en la actividad biológica de las subfracciones de HDL2 y HDL3, pueden en parte potencializar esta fuerza de asociación con el desarrollo de la diabetes mellitus tipo II. Es por esto, que Tabara y colaboradores en el 2017 (31), estudiaron una población de 8365 individuos adultos entre hombres y mujeres de origen japonés, los cuales no se encontraban tomando ningún tipo de medicamento reductor de la concentración de lípidos, a quienes se les determinó su perfil lipídico, las subfracciones de HDL y los valores de insulina. Encontraron que los valores de colesterol HDL total y HDL2, fueron mayores en mujeres que en hombres; en cuanto a la relación de las subfracciones de HDL, reportaron una relación inversa entre los niveles de HDL2 y la resistencia a la insulina, mientras que las HDL3 presentaron una relación opuesta; concluyendo que la concentración de HDL2 puede tener una función antidiabética.

En Estados Unidos, un estudio poblacional estableció parámetros demográficos de línea base, características clínicas y parámetros lipoprotéicos, en individuos con y sin eventos cardiovasculares. En este estudio con relación a las HDL, encontraron que los valores del HDL total, las HDL2 y las HDL3, eran significativamente mayores en individuos sin eventos coronarios, pero no encontraron relación estadística al comparar los niveles de colesterol total, triglicéridos y LDL, en los dos grupos estudiados. También, reportaron que en ambos grupos analizados los valores de HDL3 son menores comparados con los niveles de HDL2. Los autores también señalan que los niveles de HDL3 son factor predictivo de la reducción de eventos cardiovasculares para los sujetos que recibieron tratamiento de reducción de las LDL con estatíνας, señalando entonces a esta subpoblación de HDL como la responsable principal de la asociación inversa entre el colesterol HDL y la enfermedad cardiovascular (32).

En las últimas décadas, ha aumentado la incidencia de enfermedades cardiovasculares en mujeres, en particular, se tiene la premisa que la pérdida de estrógenos durante la menopausia hace que las mujeres sean igual de propensas que los hombres, frente a estas enfermedades; un aspecto que direcciona esta idea es que, luego de la menopausia se aumentan las concentraciones del perfil lipídico, principalmente con relación a las cantidades de colesterol total, los triglicéridos y LDL, sumado a una reducción de las HDL, con posibles cambios en la distribución del colesterol entre las

subfracciones de HDL2 y HDL3. Con base en esto, un grupo de investigadores británicos evaluaron los cambios en el perfil lipídico y las subfracciones de HDL tanto en mujeres pre y postmenopáusicas como en hombres de edad similar, encontrando que tanto el colesterol total y el colesterol HDL total era significativamente mayor en las mujeres postmenopáusicas, comparadas con los otros dos grupos evaluados. En cuanto a las subfracciones de HDL, reportaron que los niveles de HDL2 en mujeres premenopáusicas son mayores que en los demás grupos y que para el caso de los hombres, los valores de HDL2, HDL3 y HDL total fueron estadísticamente menores que los valores observados en los dos grupos de mujeres. Estos resultados, indican que el cambio hormonal debido a la menopausia, aumenta el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares en mujeres; El género sigue siendo un factor de mayor impacto, para el desarrollo de este tipo de enfermedades (33).

Se ha observado que el ejercicio modifica las concentraciones de HDL, aumentando las subfracciones de HDL tanto en individuos sin enfermedad cardiovascular diagnosticada como en atletas. Albaghdadi y colaboradores en el 2017 (34), evaluaron los cambios producidos en las subfracciones de HDL en tres grupos de individuos con actividad física controlada: El primer grupo, realizó ejercicio supervisado en cinta rodante tres veces por semana durante 24 semanas, el segundo grupo realizó entrenamiento de resistencia (alta actividad física) durante el mismo tiempo que el grupo de ejercicio en cinta rodante, y finalmente un grupo control, compuesto por individuos sanos que no realizaban ejercicio. Los resultados encontrados señalaron que, los valores de HDL total, HDL2 y HDL3 fueron mayores en el grupo de ejercicio en cinta rodante y los menores resultados fueron observados en el grupo de individuos que realizaron entrenamiento de resistencia, sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Tampoco se encontraron cambios en la capacidad de eflujo del colesterol o los marcadores inflamatorios, entre los grupos estudiados.

El estudio Gofman's a mediados del siglo XX, seguido del estudio Framingham confirmó la asociación inversa e independiente de los niveles de colesterol HDL y los eventos de enfermedad coronaria. Los estudios en los cuales se asocian las subfracciones de HDL con la enfermedad coronaria brindan resultados contradictorios sobre si los niveles de HDL2 o HDL3 son los determinantes principales para establecer esta relación inversa con la enfermedad, generando incertidumbre sobre su utilidad clínica. Por esta razón, Joshi y colaboradores (35), evaluaron a hombres y mujeres africanos del estudio Jackson Heart Study y a hombres y mujeres caucásicos del estudio Framingham Offspring, evidenciando que tanto el HDL total como el HDL2 y HDL3 fueron estadísticamente mayores en la población africana, mientras que, los caucásicos presentaron los mayores niveles de triglicéridos. Asimismo, encontraron que en la población africana no se

presentaron diferencias entre los valores de HDL y sus subfracciones con respecto a individuos con o sin enfermedad coronaria, situación que, sí se evidenció en la población caucásica, siendo los valores mayores en los individuos sin enfermedad coronaria. En conclusión, esta investigación señala que los niveles de HDL3 son los principales responsables de la asociación inversa entre el HDL y la enfermedad coronaria.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Caracterizar los principales componentes lipídicos de las subfracciones de HDL de plasma de jóvenes sin enfermedad diagnosticada.

#### **4.1.1. Objetivos específicos**

Identificar la presencia de colesterol y triglicéridos en las subfracciones HDL2 y HDL3.

Determinar la concentración de colesterol y triglicéridos en las subfracciones HDL2 y HDL3.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Población de estudio

La población fue conformada por un total de 10 hombres aparentemente sanos, el tamaño de la muestra fue condicionada y el tipo de estudio descriptivo.

Los voluntarios firmaron el consentimiento informado. Los criterios de inclusión fueron no haber sido diagnosticados con alguna enfermedad cardiovascular, ejercicio regular y estilo de vida saludable; sus edades oscilaban entre los 18 y los 40 años y en su mayoría eran estudiantes activos de la Universidad del Quindío.

### 5.2. Toma de la muestra

Las muestras de sangre fueron obtenidas después de 8-12 horas de ayuno por venopunción en tubo con anticoagulante. Se realizó la separación del plasma por centrifugación a 2500 rpm a 4 °C y se almacenó a -20 °C hasta el momento de su uso (dentro de los 10 días siguientes).

### 5.3. Cuantificación de los lípidos

La cuantificación del colesterol y los triglicéridos se realizó por métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando el kit comercial liquicolor (Human Diagnostics Worldwide), siguiendo las indicaciones del fabricante.

#### 5.3.1. Cuantificación de triglicéridos

Se mezclaron 10 µL de la muestra o del estándar de triglicéridos aportado en el Kit, con 1000 µL del reactivo. Esta mezcla se agitó y se incubó durante 10 minutos a 25 °C, luego se realizó la lectura de la absorbancia contra el blanco a una longitud de onda de 500 nm.

Como blanco se utilizaron 1000 µL de solo reactivo.

Para calcular la concentración de triglicéridos, se utilizó la ecuación (1):

$$\text{Concentración} = 200 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ estándar}} \text{ [mg/dL]} \quad (1)$$

### 5.3.2. Cuantificación de colesterol

Se mezclaron 10 µL de la muestra o del estándar de colesterol aportado en el Kit, con 1000 µL del reactivo. Esta mezcla se agitó y se incubó durante 10 minutos a 25 °C, luego se realizó la lectura de la absorbancia contra el blanco a una longitud de onda de 500nm.

Como blanco se utilizaron 1000 µL de solo reactivo.

Para calcular la concentración de colesterol total, se utilizó la ecuación (1):

### 5.3.3. Cuantificación de colesterol HDL total

Para la determinación del colesterol HDL total se utilizó el Kit comercial Human ® HDL-colesterol.

Se mezclaron 10 µL de la muestra o el reactivo calibrador aportado en el Kit, con 750 µL del reactivo de enzimas incluido en el kit. Esta mezcla se agitó cuidadosamente y se incubó durante 5 minutos a 37°C, luego se adicionaron 250 µL de sustrato y nuevamente se incubó durante 5 minutos a 37°C, finalmente, se realizó la lectura de la absorbancia contra el blanco a una longitud de onda de 593nm.

Como blanco se utilizó una mezcla de 10 µL de agua, 750 µL de enzimas y 250 µL de sustrato, realizando los mismos procesos de incubación usados con las muestras.

Para calcular la concentración de colesterol total, se utilizó la ecuación (2):

$$\text{Concentración} = \text{Concentración del reactivo calibrador} \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ Calibrador}} \text{ [mg/dL]} \quad (2)$$

### 5.3.4. Separación de las subfracciones de HDL

Las subfracciones de HDL2 y HDL3 fueron separadas por el método de precipitación con sales, propuesto por -Gidez- y colaboradores (36), con algunas modificaciones realizadas por el grupo de investigación en enfermedades cardiovasculares y metabólicas (GECAVIME) de la universidad del Quindío. A un volumen de 500 µL del sobrenadante obtenido en la cuantificación de HDL total por método colorimétrico estándar, se le agregaron 50 µL de dextran sulfato a 1.5 M y Mg<sup>+2</sup> a 10 g/L. Luego esta mezcla se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos. El precipitado obtenido contiene las HDL2 (el cual se diluyó en Tris HCL pH 6,8 se aforo a 500 µL) y el sobrenadante a las HDL3.

## **5.4. Determinación de las proteínas de las subfracciones de HDL**

### **5.4.1. Separación de las proteínas de las subfracciones de HDL en geles**

La separación de proteínas se realizó en geles de poliacrilamida en gradiente de concentración, el cual iba desde 5-12% (37). Se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de cada una de las subfracciones de HDL obtenidas y se colocaron en cada pozo del gel, usando buffer TBE (0.089 M Tris, 0.089 M Ácido bórico y 0.002 M EDTA) a pH 8,35 y 120 voltios durante 24 horas. Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie R-250 (al 0,1% en 3:6:1 MeOH: H<sub>2</sub>O) y decolorados con ácido acético al 5%.

Los geles luego fueron escaneados en un densitómetro (GS-670 Calibrated Densitometer Systems Bio-Rad).

### **5.4.2. Cuantificación de las proteínas de las subfracciones de HDL**

La concentración de proteínas en cada una de las subfracciones fue cuantificada por el método de Lowry. Inicialmente, se realizó una curva de calibración utilizando albúmina sérica a las siguientes concentraciones 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1 mg/mL. (BSA). En cada tubo de ensayo se adicionaron 90  $\mu\text{L}$  de agua, 10  $\mu\text{L}$  de la muestra, 500  $\mu\text{L}$  de reactivo (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2%, CuSO<sub>4</sub> al 1% y tartrato sódico potásico al 2%). Luego se incubó durante 15 minutos en oscuridad y se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin, se mezcló bien y se incubó durante 30 minutos en oscuridad, finalmente se leyó la absorbancia a 580nm (38).

## **5.5. Caracterización de los lípidos de las subfracciones de HDL**

De las muestras obtenidas de HDL total y las subfracciones de HDL (HDL2 y HDL3) se tomó una muestra normalizada con la cuantificación de proteínas, Las muestras fueron depositadas en un gel de gradiente de concentración de poliacrilamida en condiciones no denaturantes, se utilizó como buffer de corrido buffer Tris- glicina 25mM a pH 8,3. Se aplicó una corriente de 90 voltios durante 30 minutos y 110 voltios durante 16 horas a 10°C. Los geles obtenidos fueron teñidos con azul de coomasie R-250, para visualizar las bandas de las lipoproteínas en estudio (37).

### 5.5.1. Determinación del colesterol de las subfracciones HDL en los geles

Para determinar el colesterol HDL presente en las subfracciones separadas en los geles de poliacrilamida; los geles se estabilizaron de 7-10 minutos en buffer PBS (Concentración 10 mM PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, 137 mM NaCl y 2.7 mM KCl.), luego se colocaron durante 1 hora a 37°C en oscuridad en una mezcla enzimática, que contenía, colesterol ésterasa, colesterol oxidasa y peroxidasa a una concentración final de 150 U/L, 100 U/L, y 5 KU/L, respectivamente (Reactivo comercial de HUMAN – COLESTEROL liquicolor), disueltas en una solución buffer de fosfato 30 mM (pH 6,5). La mezcla de reacción también incluyó, Triton 100X 0,4mM tiazolilo azul bromuro de tetrazolio (MTT), 0,6 mM de fenazina metosulfato (PMS), y carboximetilcelulosa al 1,4% como agente viscosante. Al final del tiempo de incubación, la mezcla de reacción se retiró y los geles se lavaron suavemente en PBS para eliminar cualquier residuo restante de carboximetilcelulosa (37).

Finalmente, los geles fueron escaneados en un densitómetro BioRad GS-670. Las proporciones relativas de cada subfracción de HDL se estimaron mediante análisis de densitometría óptica utilizando como referencia el marcador de peso NOVEX Benchmack (pre- stained protein Ladder). El contenido de colesterol para cada subfracción de HDL se determinó usando un perfil ya determinado en el densitómetro, como control, con base a las distancias de migración del estándar (marcador de peso NOVEX). Se tuvo en cuenta el área bajo la curva en el densitograma correspondiente al control, representa el 100% del colesterol, en la HDL y para determinar las concentraciones plasmáticas correspondientes a cada subfracción de HDL se utilizó la ecuación (3):

$$\mathbf{HDL\ n-L} = \frac{\%HDL\ n \times HDL-L}{100} \quad (3)$$

Donde **n** representa la subfracción **HDL**, **%HDLn** es el porcentaje relativo de cada subfracción determinada por densitometría óptica, y **HDL-L** es la concentración de colesterol **HDL** determinada por los kits comerciales descritos anteriormente (39).

### 5.5.2. Determinación de los triglicéridos de las subfracciones HDL en los geles

Para determinar los triglicéridos presentes en las subfracciones separadas en los geles de poliacrilamida, estos se estabilizaron durante 10 minutos en buffer PBS, luego se colocaron durante 1 hora a 37°C en oscuridad, en una mezcla enzimática de  $\geq 500$  U /L de lipasa,  $\geq 400$  U / L de glicerol quinasa,  $\geq 1500$  U /L de glicerol 3-fosfato oxidasa, y  $\geq 1300$  U /L de peroxidasa, 2 mmol/L de ATP (mezcla comercial de HUMAN-TRIGLICERIDOS liquicolor), en buffer PIPES 50 mM (piperazina -N,N bis [2-ácido etenosulfónico]) (pH: 7,5). La mezcla de reacción también incluyó, Triton 100X 0,4 mM, tiazolilo azul bromuro de tetrazolio (MTT), 0,6 mM de fenazina metosulfato (PMS), y carboximetilcelulosa al 1,4% como agente viscosante. Al final del periodo de incubación, la mezcla de reacción se retiró y los geles se lavaron suavemente en PBS para eliminar cualquier residuo restante de carboximetilcelulosa (37).

Similar, al colesterol, los geles fueron escaneados en un densitómetro BioRad GS-670. Las proporciones relativas de cada subfracción de HDL se estimaron mediante análisis de densitometría óptica utilizando como referencia el marcador de peso NOVEX Benchmack (pre- stained protein Ladder). El contenido de triglicéridos para cada subfracción de HDL se determinó usando un perfil ya determinado en el densitómetro, como control, con base a las distancias de migración del estándar (marcador de peso NOVEX). Teniendo en cuenta que el área bajo la curva en el densitograma correspondiente al control, representa el 100% de los triglicéridos, de la HDL y para determinar las concentraciones plasmáticas correspondientes a cada subfracción de HDL se utilizó la ecuación (3):

## **5.6. Análisis estadístico**

Los datos fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar de los resultados de dos determinaciones por triplicado para cada ensayo. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software SPSS versión 25. Se aplicó una prueba Tukey para realizar las comparaciones entre los grupos de subpoblaciones de HDL. Los valores  $p < 0,05$  fueron considerados como resultados con diferencias estadísticamente significativas. Estudio de tipo descriptivo.

## 6. RESULTADOS

El rango de edad de los individuos participantes del proyecto se encontró entre 18 y 40 años, con un valor promedio de 36,9 años (Tabla 1), indicando que se estaba evaluando a adultos jóvenes. Para los individuos evaluados en este estudio, el índice de masa corporal (IMC) en general se considera como normal, aunque el valor promedio se encontró muy cercano al límite donde se empieza a considerar el sobrepeso, con un promedio de 24,6 kg/m<sup>2</sup>. Tres de los individuos participantes presentaron valores considerados como sobrepeso, con un IMC promedio de 26,7 kg/m<sup>2</sup> y solo uno de los individuos muestreados presentó un valor de IMC 32,9 kg/m<sup>2</sup>, considerado según este parámetro como un individuo con obesidad (Tabla 1).

**Tabla 1. Características antropométricas de la muestra poblacional.**

<b>Variable</b>	<b>Valores observados</b>	<b>Rango (mínimo – máximo)</b>
Edad (años)	36,9 ± 7,5	18 – 40
Talla (m)	1,74 ± 0,08	1,62 – 1,86
Peso (Kg)	74,3 ± 12,5	55 – 93
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	24,7 ± 3,9	20,2 – 32,9

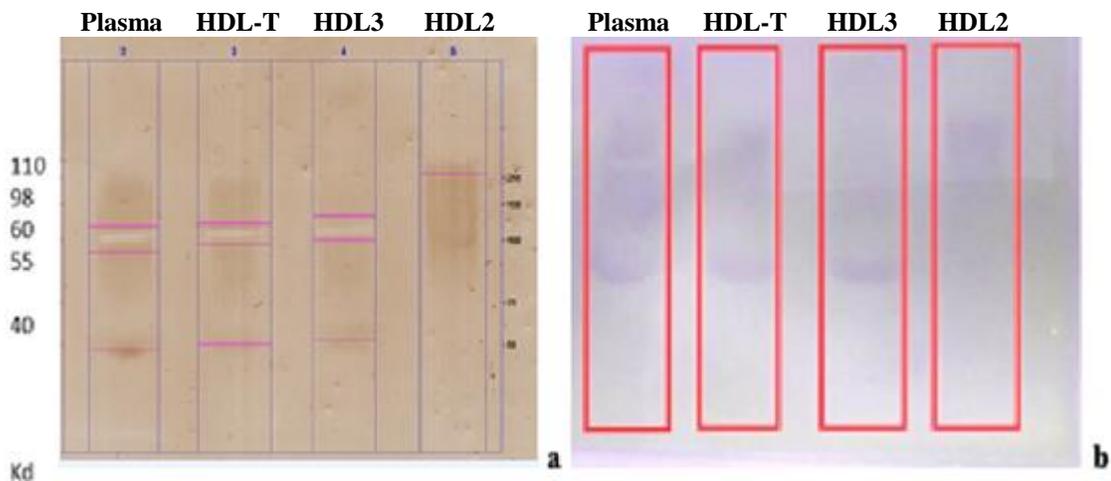
En cuanto al perfil lipídico de los individuos evaluados, en promedio el colesterol, los triglicéridos y el HDL total, se encuentran dentro de los valores de referencia normales (Tabla 2.). Sin embargo, se encontró que 4 individuos presentan valores de colesterol por encima de los valores normales de referencia (mayor de 200 mg/dL), es decir, considerados como límite alto según las guías de tratamiento para disminuir los lípidos y el riesgo de enfermedad coronaria diseñadas por el National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP-IV) (40), así mismo, tres de estos individuos con colesterol en límite alto, también presentaron concentraciones de triglicéridos superiores a lo recomendado como valores normales (150 mg/dL) (41). Es importante destacar que tanto las concentraciones de triglicéridos como las de las HDL de los individuos evaluados fueron muy variadas, con valores extremos tanto en el límite inferior como superior (Tabla 2.). Es de notar, que las concentraciones de LDL en promedio tuvieron un valor de 106,7 mg/dL, siendo este un valor superior al rango de referencia óptimo (hasta 100 mg/dL), indicando que el promedio de los sujetos de estudio, presentaron un leve riesgo de síndrome metabólico, según la última clasificación de ATP IV (40). De hecho, el 70% de los individuos se encontraron por encima de los valores de referencia óptimos con un promedio de 125,4 mg/dL, siendo este valor, cercano al límite del rango del grupo de clasificación alto.

**Tabla 2. Perfil lipídico de la muestra poblacional.**

Variable	Valores observados	Rango (min – máx.)	Valores de referencia
Colesterol Total (mg/dL)	187,7 ± 24,2	134 - 210	60 – 200 mg/dL
Triglicéridos (mg/dL)	145,1 ± 60,5	70 – 249	Hasta 150 mg/dL
LDL (mg/dL)	106,7 ± 33,4	39,6 – 136	Hasta 100 mg/dL
VLDL (mg/dL)	28,5 ± 11,7	14 – 49,8	Hasta 30 mg/dL
HDL (mg/dL)	38,8 ± 8,9	27 – 52	40 – 60 mg/dL

Con respecto a las concentraciones de HDL como se puede observar en la Tabla 2, el promedio de esta variable se encuentra por debajo del valor de referencia normal, de hecho, solo el 40% de las muestras evaluadas, presentaron valores dentro de los rangos establecidos como rango de referencia normal, con un valor promedio de 47,8 mg/dL.

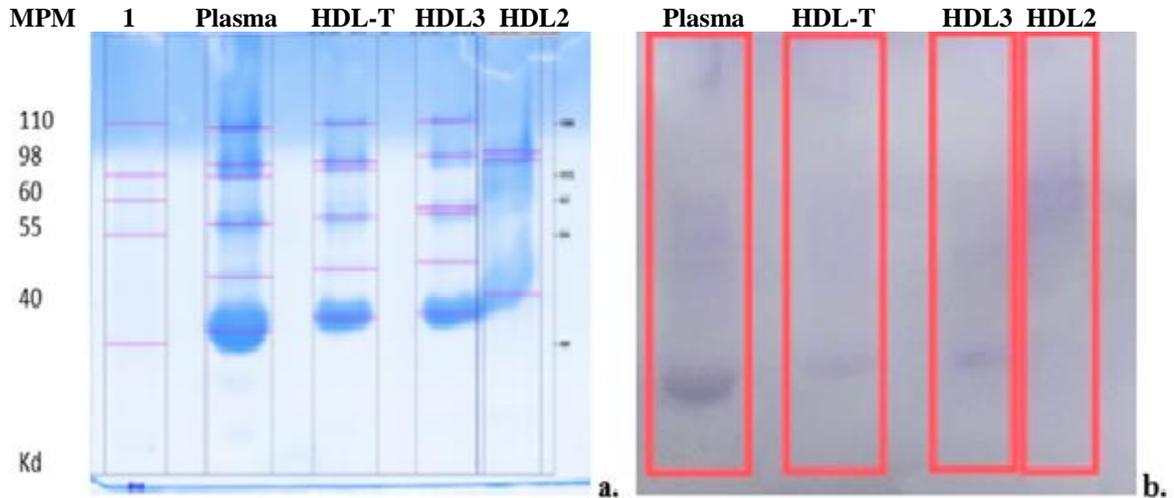
Con relación a la caracterización de los lípidos en las subfracciones HDL, en la figura 2, se observa la separación en los geles de poliacrilamida para la determinación de colesterol presente en las subfracciones de HDL (HDL2 y HDL3), (Figura 2). Del mismo modo, se nota una mayor diversidad y cantidad de proteínas presentes en las subfracciones de HDL3 comparado con las subfracciones HDL2.



**Figura 2.** Patrón electroforético de las subfracciones de HDL: **a.** separación de las proteínas de las subfracciones de HDL. **b.** corrido enzimático de colesterol en las subfracciones de HDL.

Similar a lo observado en el colesterol, para los triglicéridos presentes en las subfracciones HDL (HDL2 y HDL3), se encontró una distribución de triglicéridos correspondiente a los corridos de las proteínas presentes en dichas subfracciones (Figura 3). De este modo, se nota una mayor

diversidad y cantidad de proteínas y bandas de reacción enzimática de los triglicéridos presentes en las subfracciones de HDL3 comparado con las subfracciones HDL2.



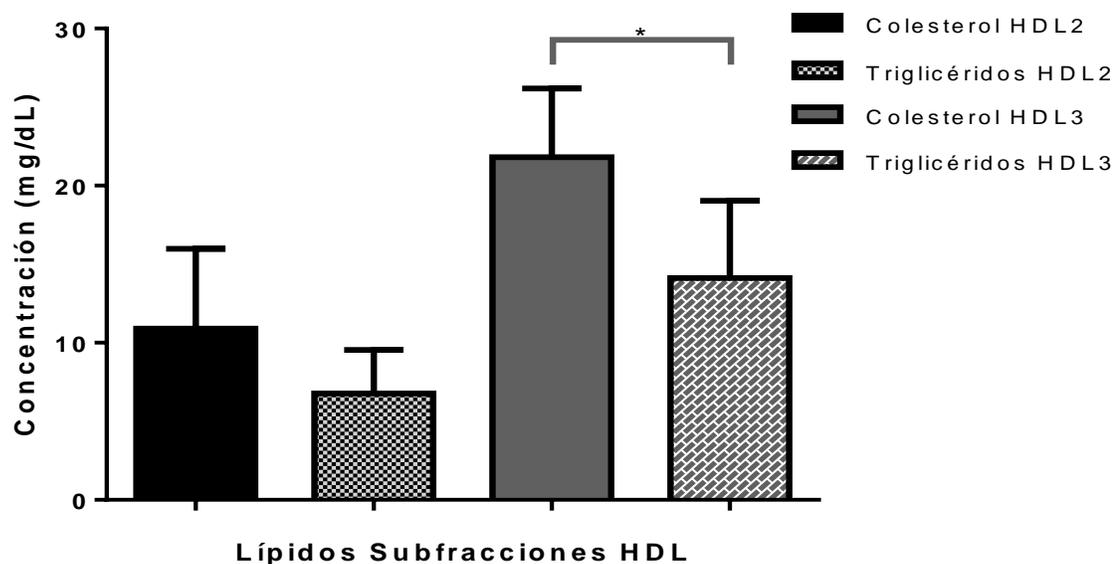
**Figura 3.** Patrón electroforético de las subfracciones de HDL: **a.** separación de las proteínas de las subfracciones de HDL. **b.** corrido enzimático de triglicéridos en las subfracciones de HDL.

Finalmente, al evaluar las concentraciones de las subfracciones de HDL para todos los individuos del estudio, se encontró que las concentraciones de colesterol en las HDL3 son mayores a las concentraciones de HDL2, siendo en promedio una diferencia del doble de la cantidad y siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,0001$ ) (Tabla 3.). De la misma manera, los triglicéridos presentes en las subfracciones HDL3 fueron superiores a los observados en las subfracciones HDL2, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,0001$ ) (Tabla 3.). También se observa que las concentraciones de colesterol tanto en la HDL3 como en la HDL2 son mayores que las concentraciones de triglicéridos observadas en estas mismas subfracciones, siendo esta diferencia estadísticamente significativa para la relación entre el colesterol y los triglicéridos de la subfracciones HDL3 (Figura 4).

En términos generales, el contenido lipídico de las subfracciones de HDL, está representado en un 61% por colesterol.

**Tabla 3. Caracterización lipídica de las subfracciones de HDL.**

Variable	Valores observados	Rango (min – máx.)	p
Colesterol HDL2 (mg/dL)	10,9 ± 5,1	5,2 – 22,9	0,0001
Colesterol HDL3 (mg/dL)	21,8 ± 4,4	15,4 – 28,9	
Triglicéridos HDL2 (mg/dL)	6,8 ± 2,8	3,8 – 12,3	0,0001
Triglicéridos HDL3 (mg/dL)	14,1 ± 4,9	7,7 – 20,8	



**Figura 4. Colesterol y triglicéridos de las subfracciones HDL.**

## 7. DISCUSIÓN

En este trabajo se caracterizaron dos componentes lipídicos de las subfracciones HDL obtenidas del plasma de hombres jóvenes sin enfermedad diagnosticada. La precipitación iónica de las subfracciones y la separación electroforética en gradientes de concentración permitió la identificación y cuantificación del colesterol y los triglicéridos en las subfracciones HDL2 y HDL3.

Al respecto de los métodos utilizados Hafiane & Genst en el 2015 indican que el método de separación de las subfracciones de HDL por precipitación de sales, no mostró diferencias significativas al ser comparado con otros métodos de separación y cuantificación de lípidos como es la ultracentrifugación (42). También señalan que este método es útil, reproducible y una forma rápida para precipitar las HDL de suero o plasma. - Esto brinda soporte y confianza en cuanto a la validez de los resultados obtenidos en el presente trabajo.

En relación con los resultados estos muestran que los sujetos de estudio presentaron niveles de lípidos normales, pues la media de concentración de colesterol total y triglicéridos en sangre fue de 187,7 mg/dL y 146,1 mg/dL, respectivamente, encontrándose dentro de los rangos óptimos según la guía de práctica clínica para la prevención, detección temprana, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las dislipidemias en la población mayor de 18 años (43). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los valores de referencia internacionales como los de ATP IV (40), en los cuales está basada la guía del Ministerio de salud (43), se fundamentan en los resultados de otras poblaciones las cuales poseen condiciones muy diferentes a la población colombiana como dieta, actividad física, herencia entre otros; de allí la necesidad de contar con valores de referencia más ajustados a nuestra población, como el trabajo realizado por Galvis y colaboradores en el 2016 (22), donde realizaron análisis para establecer una línea base de intervalos de referencia de los lípidos para la población colombiana. Con base en el trabajo de Galvis y colaboradores, los resultados encontrados en este estudio, en cuanto a perfil lipídico, señalan que variables como colesterol, triglicéridos, VLDL y LDL, se encuentran por encima de los rangos reportados como normales por estos investigadores; por el contrario, los valores de HDL se encuentran muy por debajo de los rangos reportados en su estudio, es decir, que si se asume que para la población colombiana esos son los valores de referencia, el perfil lipídico de nuestra población aparentemente sana, indicaría que se encuentran en factor de riesgo para el desarrollo de dislipidemia, ya que el factor protector (HDL) sería muy bajo y los factores de riesgo (triglicéridos, LDL y colesterol) estarían elevados.

Es interesante que los resultados obtenidos en nuestro estudio con respecto a los niveles de HDL se encuentran por debajo de los rangos óptimos según la guía de práctica clínica para la prevención, detección temprana, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las dislipidemias en la población mayor de 18 años (43) del mismo modo cuando se contrastan con los resultados del trabajo realizado por Galvis y colaboradores en el 2016 (22); Estos valores bajos de HDL son similares a los resultados obtenidos por Camacho y colaboradores en el 2018 (44) en un estudio a gran escala, cuyo objetivo fue identificar la prevalencia de las dislipidemias en Colombia, el cual contó con un muestra de 6628 personas, entre hombres y mujeres de diversos estratos socioeconómicos y nivel educativo, cuyas edades oscilaban entre 35 a 70 años que residían en cuatro regiones colombianas, ellos reportaron una mayor prevalencia de anomalías lipídicas en hombres; por otra parte los niveles bajos de HDL-c fueron la segunda anomalía más frecuente en toda la población, solo superada por niveles elevados de colesterol, no obstante en este mismo estudio se reporta que la dislipidemia más frecuente en la ciudad de Bucaramanga en una muestra aleatoria de 2989 sujetos de 15 a 64 años fueron los niveles bajos de HDL-c seguida de triglicéridos altos, por último, la media de HDL reportada por este estudio fue de 41.9 mg/d; estos resultados que son similares a nuestros resultados de perfil lipídico, pueden estar evidenciando que existe un carácter genético en la población colombiana para niveles bajos de HDL.

En cuanto a los resultados obtenidos en la caracterización de lípidos en las subfracciones, se evidenció un mayor contenido de colesterol y triglicéridos en las subfracciones de HDL3, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados son comparables con lo reportado por Joshi y colaboradores en el 2016, quienes evaluaron la relación de las subfracciones de HDL con eventos de enfermedad coronaria, encontrando que en los estudios de amplias poblaciones como el estudio Jackson Heart y Framingham, los valores de HDL3 fueron superiores a los observados en las HDL2.

En la literatura, se encuentra suficiente evidencia sobre las propiedades antiinflamatorias (15), antioxidantes (14), antiapoptóticas (45), antitrombóticas (46) y de mejora de la función endotelial de las HDL; sin embargo, la complejidad biológica del sistema del transporte inverso del colesterol no se puede elucidar simplemente con la determinación de su contenido en las subfracciones de HDL, en un momento determinado, esto debido a que es un sistema bastante dinámico. No obstante, los niveles de colesterol y triglicéridos, más altos en las subfracciones de HDL3, pueden indicar que dichas partículas son más eficientes recogiendo colesterol de las otras lipoproteínas y que en individuos sanos y aparentemente sanos su transformación en HDL2 es más limitada. Sumado a lo anterior, los análisis proteómicos de las subfracciones de HDL muestran distintas

proteínas asociadas a cada subfracción (47), sugiriendo que cada subfracción responde a funciones protectoras diferentes, implicando que además del estudio de su contenido lipídico, es importante determinar la distribución proteica en cada subfracción; a pesar que en este estudio no se evaluó el tipo de proteínas presentes en cada una de ellas, en los corridos electroforéticos sí se puso en evidencia un mayor contenido y diversidad proteica en la subfracción de HDL3, como se puede apreciar en las figuras 2 y 3.

En contraste a nuestra investigación, otros estudios reportan que las concentraciones de colesterol en las subfracciones HDL2 son mayores a lo encontrado en las HDL3; tal es el caso de los estudios realizados por Albers y colaboradores en el 2016 (32), quienes buscaban establecer una línea base de concentración de las subfracciones de HDL en sujetos con eventos cardiovasculares y que se encontraban consumiendo medicamentos hipolipemiantes, ellos reportan que el colesterol de las HDL2 fue mayor (21,3 mg/dL) comparado con la HDL3 (17,4 mg/dL); Sin embargo, en su estudio también señalaron que el aumento de las subfracciones HDL3 constituyen un factor protector para los eventos cardiovasculares, es posible entonces, que las diferencias con nuestro estudio, se deban a que los sujetos evaluados son jóvenes y aparentemente sanos y no han sido sometidos a tratamientos para dislipidemias, sugiriendo en este caso (individuos jóvenes y sanos) que las subfracciones HDL3 ejercen un efecto protector comparadas con las HDL2. Lo anteriormente señalado, podría estar respaldado por los resultados reportados por Albaghdadi y colaboradores en el 2017 (34), quienes reportaron valores de colesterol más altos en las subfracciones HDL3 en una población de individuos sanos y que realizaban actividad física; resultados que concuerdan con nuestro estudio, es decir, que se evidencia una mayor concentración de colesterol en las subfracciones HDL3 cuando se trata de sujetos sanos. Del mismo modo, los resultados encontrados en una población de hombres sanos de la ciudad de Sao Paulo, Brasil (48), señalan que los valores de HDL3 fueron estadísticamente mayores comparados con los observados en las HDL2. Ahora bien, es importante señalar que nuestro estudio no estaba evaluando casos controles, por tal motivo, no se puede afirmar que una u otra de las subfracciones de HDL se comportan como factor protector o de riesgo para alguna enfermedad definida.

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ Las subfracciones de HDL3 poseen una mayor concentración tanto de colesterol como de triglicéridos comparadas con las HDL2, y esta diferencia es estadísticamente significativa.
- ✓ El lípido con mayor concentración en las subfracciones de HDL fue el colesterol alcanzando un 61% sobre la concentración total de lípidos analizados.
- ✓ Los resultados confirmaron que la familia de lipoproteínas de alta densidad (HDL) poseen diferencias significativas en su composición lipídica; esto es importante ya que contribuye a esclarecer el conocimiento de las HDL como elemento protector contra la enfermedad cardiovascular.

## **9. RECOMENDACIONES**

Como se ha evidenciado la amplia gama de funcionalidad de las HDL, sería de interés biomédico, evaluar el comportamiento de las subfracciones de las HDL en diferentes patologías o valorando el efecto sobre la composición de lípidos en ellas causado por extractos de plantas medicinales con evidencia científica de su efecto sobre el metabolismo lipídico.

Por último, se recomienda realizar estudios con un mayor número de muestra de diferentes poblaciones de nuestra región, con la finalidad de ir construyendo los valores de referencia para la población colombiana.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

Como estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas, quiero agradecer a todo el equipo administrativo y docente del programa, así mismo, expreso mi agradecimiento a mi tutora por brindarme la oportunidad de aprender de todo su conocimiento que fue invaluable en este proceso y al grupo de investigación GECAVYME, a cada una de los integrantes por acogerme y darme su apoyo, a mis familiares y amigos a cada uno de ustedes por la oportunidad que me brindaron para realizar esta investigación y crecer como personal y como profesional. Gracias infinitas a todos.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19 (42).
2. Tsoimpanidi EM, Brinkmeier MS, Fotiadou EH, Giakoumi SM, Kypreos KE. HDL biogenesis and functions: Role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2010; 208 (1): 3–9.
3. Armitage J, Holmes M V., Preiss D. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition for Preventing Cardiovascular Events: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2019; 73 (4): 477–87.
4. Ferri N, Corsini A, Sirtori CR, Ruscica M. Present therapeutic role of cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Pharmacol Res.* 2018; 128: 29–41.
5. Nicholls SJ, Nelson AJ. HDL and cardiovascular disease. *Pathology.* 2019; 51 (2): 142–7.
6. Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ. Thematic review series: High density lipoprotein structure, function, and metabolism: Unraveling the complexities of the HDL lipidome. *J Lipid Res.* 2013; 54 (11): 2950–63.
7. Shao B, Heinecke JW. Quantifying HDL proteins by mass spectrometry: how many proteins are there and what are their functions? *Expert Rev Proteomics.* 2018 Jan 2; 15 (1): 31–40. doi/full/10.1080/14789450.2018.1402680
8. Rizzo M, Otvos J, Nikolic D, Montalto G, Toth PP, Banach M. Subfractions and Subpopulations of HDL: An Update. *Curr Med Chem.* 2014 Jul 31; 21 (25): 2881–91.
9. Rached FH, Chapman MJ, Kontush A. HDL particle subpopulations: Focus on biological function. *BioFactors.* 2015; 41 (2): 67–77.
10. Brunham LR, Hayden MR. Human genetics of HDL: Insight into particle metabolism and function. *Prog Lipid Res.* 2015; 58: 14–25. doi.org/10.1016/j.plipres.2015.01.001
11. Trajkovska KT, Topuzovska S. High-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport: Strategies for raising HDL cholesterol. *Anatol J Cardiol.* 2017; 18 (2): 149–54.
12. Gluba-Brzózka A, Franczyk B, Banach M, Rysz-Górczyńska M. Do HDL and LDL

subfractions play a role in atherosclerosis in end-stage renal disease (ESRD) patients? *Int Urol Nephrol.* 2017; 49 (1): 155–64.

13. Hartley A, Haskard D, Khamis R. Oxidized LDL and anti-oxidized LDL antibodies in atherosclerosis – Novel insights and future directions in diagnosis and therapy. *Trends Cardiovasc Med.* 2019; 29 (1): 22–6. doi.org/10.1016/j.tcm.2018.05.010
14. Soran H, Schofield JD, Durrington PN. Antioxidant properties of HDL. *Front Pharmacol.* 2015; 6 (OCT): 222.
15. Namiri-Kalantari R, Gao F, Chattopadhyay A, Wheeler AA, Navab KD, Farias-Eisner R, et al. The dual nature of HDL: Anti-Inflammatory and pro-Inflammatory. *BioFactors.* 2015; 41 (3): 153–9.
16. El Khoudary SR, Wang L, Brooks MM, Thurston RC, Derby CA, Matthews KA. Increase HDL-C level over the menopausal transition is associated with greater atherosclerotic progression. *J Clin Lipidol.* 2016; 10 (4): 962–9. doi.org/10.1016/j.jacl.2016.04.008
17. Feingold KR, Grunfeld C. Effect of inflammation on HDL structure and function. *Curr Opin Lipidol.* 2016; 27 (5): 521–30.
18. Tall AR. Plasma high density lipoproteins: Therapeutic targeting and links to atherogenic inflammation. *Atherosclerosis.* 2018; 276: 39–43. doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2018.07.004
19. Langsted A, Nordestgaard BG. Nonfasting versus fasting lipid profile for cardiovascular risk prediction. *Pathology.* 2019; 51 (2): 131–41.
20. Sourlas A, Kosmas CE. Inheritance of high and low HDL: Mechanisms and management. *Curr Opin Lipidol.* 2019; 30 (4): 307–13.
21. Toro MI. Lipid profile values: All with the same standard. *Acta Medica Colomb.* 2016; 41 (1): 13–5.
22. Galvis Y, Barona J, Cardona JA. Intervalos biológicos de referencia del perfil lipídico. *Acta Medica Colomb.* 2016; 41 (1): 29–35.
23. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to Lipids and Lipoproteins. Endotext, editor. Endotext. South Dartmouth: 2018; 2018. 1–29.

24. Zhang L, Yan F, Zhang S, Lei D, Charles MA, Cavigiolio G, et al. Structural basis of transfer between lipoproteins by cholesteryl ester transfer protein. *Nat Chem Biol.* 2012; 8 (4): 342–9. doi.org/10.1038/nchembio.796
25. Errico TL, Chen X, Martin JM, Julve J, Escolà-gil JC, Blanco-vaca F. Mecanismos básicos : estructura , función y metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas. *Clínica e Investig en Arterioscler.* 2013; 25 (2): 98–103. doi.org/10.1016/j.arteri.2013.05.003
26. García Díaz JD, Mesa Latorre JM, Valbuena Parra AR, Corps Fernández D. Trastornos del metabolismo lipídico. *Med.* 2016; 12 (19): 1059–71. doi.org/10.1016/j.med.2016.09.019
27. Lee-Rueckert M, Escola-Gil JC, Kovanen PT. HDL functionality in reverse cholesterol transport - Challenges in translating data emerging from mouse models to human disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids.* 2016; 1861 (7): 566–83. doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.03.004
28. Errico T., Chen X., Martin Campos J. et al. Mecanismos básicos : estructura , función y metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas. *Clínica E Investig en Arterioscler.* 2013; 25 (2): 98–103.
29. Diana G, Nieto O., Landázuri P. Efecto del ejercicio sobre las subpoblaciones HDL, la enzima lecitina-colesterol acil-transferasa y la proteína transportadora de ésters de colesterol en estudiantes de Medicina. *Rev Colomb Cardiol.* 2015; 22 (6): 277–84.
30. Superko HR, Pendyala L, Williams PT, Momary KM, King SB, Garrett BC. High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease. *J Clin Lipidol.* 2012; 6 (6): 496–523. doi.org/10.1016/j.jacl.2012.03.001
31. Tabara Y, Arai H, Hirao Y, Takahashi Y, Setoh K, Kawaguchi T, et al. Different inverse association of large high-density lipoprotein subclasses with exacerbation of insulin resistance and incidence of type 2 diabetes: The Nagahama study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017; 127: 123–31.
32. Albers JJ, Slee A, Fleg JL, O'Brien KD, Marcovina SM. Relationship of baseline HDL subclasses, small dense LDL and LDL triglyceride to cardiovascular events in the AIM-HIGH clinical trial. *Atherosclerosis.* 2016; 251: 454–9.
33. Anagnostis P, Stevenson JC, Crook D, Johnston DG, Godsland IF. Effects of menopause,

- gender and age on lipids and high-density lipoprotein cholesterol subfractions. *Maturitas*. 2015; 81 (1): 62–8. doi.org/10.1016/j.maturitas.2015.02.262
34. Albaghdadi MS, Wang Z, Gao Y, Mutharasan RK, Wilkins J. High-Density Lipoprotein Subfractions and Cholesterol Efflux Capacity Are Not Affected by Supervised Exercise but Are Associated with Baseline Interleukin-6 in Patients with Peripheral Artery Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2017; 4(March): 1–10.
  35. Joshi PH, Toth PP, Lirette ST, Griswold ME, Massaro JM, Martin SS, et al. Association of high-density lipoprotein subclasses and incident coronary heart disease: The Jackson Heart and Framingham Offspring Cohort Studies. *Eur J Prev Cardiol*. 2016; 23 (1): 41–9.
  36. Gidez L, Miller G, Burstein M, Slagle S, Eder H. Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *J Lipid Res*. 1982; 23 (8): 1206–23.
  37. Warnick GR, McNamara JR, Boggess CN, Clendenen F, Williams PT, Landolt CC. Polyacrylamide Gradient Gel Electrophoresis of Lipoprotein Subclasses. *Clin Lab Med*. 2006; 26 (4): 803–46.
  38. Simonian MH, Smith JA. Quantitation of proteins. *Curr Protoc Mol Biol*. 2006; 10.1.1-10.1A.9.
  39. García-Sánchez C, Torres-Tamayo M, Juárez-Meavepeña M, López-Osorio C, Toledo-Ibelle P, Monter-Garrido M, et al. Lipid plasma concentrations of HDL subclasses determined by enzymatic staining on polyacrylamide electrophoresis gels in children with metabolic syndrome. *Clin Chim Acta*. 2011; 412 (3–4): 292–8. doi.org/10.1016/j.cca.2010.10.021
  40. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63 (25 PART B): 2889–934.
  41. Abufhele A, Acevedo M, Varleta P, Akel C, Fernández M. Nuevas guías ACC / AHA 2013 en el manejo del colesterol: “Una mirada crítica del Departamento de Prevención Cardiovascular de la Sociedad Chilena de Cardiología y Cirugía Cardiovascular.” *Rev Chil Cardiol*. 2014; 33 (2): 136–41.

42. Hafiane A, Genest J. High density lipoproteins: Measurement techniques and potential biomarkers of cardiovascular risk. *BBA Clin.* 2015; 3: 175–88.
43. Muñoz O, García A, Fernández D, Higuera A, Montoya P, Arteaga JM, et al. Guía de práctica clínica tratamiento y seguimiento de las dislipidemias en la población mayor de 18 años. *Minist Salud y protección Soc - Colcienc.* 2014; (27): 1–66.
44. Camacho PA, Otero J, Pérez M, Arcos E, García H, Narvaez C, et al. The spectrum of the dyslipidemia in Colombia: The PURE study. *Int J Cardiol.* 2019; 284: 111–7. doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.10.090
45. Ganjali S, Ricciuti B, Pirro M, Butler AE, Atkin SL, Banach M, et al. High-Density Lipoprotein Components and Functionality in Cancer: State-of-the-Art. *Trends Endocrinol Metab.* 2019; 30 (1): 12–24. doi.org/10.1016/j.tem.2018.10.004
46. Garcia C, Montée N, Faccini J, Series J, Meilhac O, Cantero A V., et al. Acute coronary syndrome remodels the antiplatelet aggregation properties of HDL particle subclasses. *J Thromb Haemost.* 2018; 16 (5): 933–45.
47. Zhang Y, Gordon SM, Xi H, Choi S, Paz MA, Sun R, et al. HDL subclass proteomic analysis and functional implication of protein dynamic change during HDL maturation. *Redox Biol.* 2019; 24 (April): 101222. doi.org/10.1016/j.redox.2019.101222
48. Generoso G, Bensenor IM, Santos RD, Staniak HL, Sharovsky R, Santos IS, et al. High-density Lipoprotein-cholesterol Subfractions and Coronary Artery Calcium: The ELSA-Brasil Study. *Arch Med Res.* 2019; 50 (6): 362–7. doi.org/10.1016/j.arcmed.2019.10.006

## 12. ANEXOS

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:

#### Caracterización de lípidos en sub fracciones de HDL

El grupo de investigación de Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas - GECAVYME - de la Universidad del Quindío, va a llevar cabo un estudio *in vitro* (en el laboratorio) con el fin de determinar la presencia y concentración de lípidos en las subfracciones de HDL (lipoproteínas de alta densidad).

Las enfermedades cardiovasculares en Colombia y en el mundo siguen aumentando a pesar de los esfuerzos en promoción, prevención y nuevos tratamientos. Estudios epidemiológicos de todo el mundo han demostrado una relación inversa entre la concentración de HDL y el riesgo cardiovascular, por lo tanto, la investigación en el campo de las HDL en las últimas décadas se centró en encontrar sustancias para aumentar su concentración en plasma. Una estrategia fallida fue el desarrollo de inhibidores de la enzima transportadora de esteroides de colesterol (CETP) que aumento la concentración de las HDL, entre un 61 y el 120%, a pesar de tal aumento, también hubo un aumento importante de las muertes de los individuos tratados. Estos resultados condujeron las estrategias, primero, aislando las diferentes subfracciones de HDL y segundo describir las estructura y función de sus componentes.

Para Colombia el panorama de las HDL es crítico, pues distintos estudios muestran una baja concentración de HDL tanto en pacientes como en individuos normales. Además, estudios del grupo de investigación en enfermedades cardiovasculares y metabólicas (GECVIME) de la Universidad del Quindío, demostró que individuos con enfermedad coronaria significativa tenían, no solo HDL bajas, sino iguales niveles de CETP que aquellos sin enfermedad coronaria. Entonces ¿cuál es la diferencia de las HDL entre unos y otros? Si también tenían LDL, triglicéridos y otros lípidos en el rango de normal. Estos hallazgos sugieren entre otras causas de la enfermedad coronaria, una diferencia no en concentración sino en la estructura lipídica y proteínica de cada una de las subfracciones de HDL.

Aunque a nivel Internacional hay muchos estudios para caracterizar las subfracciones HDL, hasta donde se conoce ningún estudio en Colombia ha caracterizado la composición de lípidos y proteínas

de las subfracciones de HDL, por lo tanto hay necesidad de conocer la estructura lipídica de las subfracciones de HDL en primer lugar y un en un futuro establecer la modulación mediante el uso de un método que sea de fácil implementación en los laboratorios de investigación e incluso en los laboratorios clínicos que sirva como control y seguimiento de diferentes tratamientos en pacientes con enfermedades cardiovasculares.

De tal manera que el objetivo del presente estudio es ***Caracterizar de los principales componentes lipídicos de las subfracciones de HDL en plasma de jóvenes sin enfermedad diagnosticada.***

Estos resultados nos podrían ayudar a entender mejor las causas y los factores protectores del riesgo cardiovascular (RCV), para buscar alternativas de manejo.

Para lograr lo anterior, su participación es voluntaria y consiste en:

- Permitir la realización de una prueba de sangre, de la cual se obtendrán las sustancias antes referidas.
- Responder un cuestionario de información como: edad, dirección, nombre completo e identificación.
- Permitir la realización de la toma de la presión arterial, peso y talla.

Al obtener sus resultados de perfil lipídico, serán contactados para su entrega.

## FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Yo, \_\_\_\_\_, identificado (a) con C.C. No. \_\_\_\_\_ certifico que: los investigadores del proyecto de investigación llamado “CARACTERIZACIÓN LIPÍDICA EN SUB FRACCIONES DE HDL”, me explicaron que me han elegido como posible sujeto de investigación porque soy un hombre joven, mayor de 18 años y menor de 41 años, voluntarios sin enfermedades identificadas.

Me han informado que se quiere llevar a cabo un estudio in vitro con el fin de determinar la presencia y concentración de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos en las HDL (lipoproteínas de alta densidad).

Entiendo que mi participación es completamente voluntaria y que si acepto estoy autorizando:

1. Que me tomen una muestra de sangre al comienzo del estudio y dos meses después
2. Que me realicen una encuesta y un examen físico

Aunque para el buen desarrollo de la investigación es muy importante que yo cumpla con estos compromisos, puedo retirarme si así lo decido.

Los beneficios que puedo esperar del proyecto consisten en:

- Los exámenes de laboratorio de perfil lipídico.

Los resultados de los exámenes de laboratorio me serán entregados y explicados.

También me han informado que si en el examen de perfil lipídico, realizado por el grupo de investigadores se encuentran signos y/o síntomas que ameriten manejo médico, se remitirá al médico del Centro de Salud de la Universidad.

- La investigación se llevará a cabo por personal de salud debidamente capacitado y registrado.
- La parte clínica se llevará en el Centro de Salud de la Universidad del Quindío, debidamente habilitado por la Seccional de Salud.
- Los exámenes se procesarán en el Laboratorio del Grupo de Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas (GECVYME), por personal capacitado para tal fin.

En el caso de que tenga alguna pregunta, puedo solicitar y recibir información en el momento que lo requiera.

La **persona contacto**, responsable de este proyecto de Investigación, es la Dra. Patricia Landázuri.

La puedo localizar en los siguientes sitios de la Universidad del Quindío, en la Facultad de Ciencias de la Salud: teléfono 7359300 ext 800 ó celular 3108467710:

- Centro de Salud de la Universidad del Quindío.
- Laboratorio de Enfermedades Cardiovasculares y metabólicas.
- Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Ó en la siguiente dirección electrónica: [plandazu@uniquindio.edu.co](mailto:plandazu@uniquindio.edu.co)

Mi participación voluntaria en este estudio no interfiere en mis actividades habituales y si decido retirarme del estudio, esto no afectará mi desempeño como estudiante. Habiendo entendido lo que se me ha explicado y lo que he leído, otorgo mi consentimiento y compromiso informado para participar en este proyecto.

Firma de la persona que otorga el consentimiento informado:

NOMBRE

Fecha:

C.C.

Firma de la investigadora médica que brindó la asesoría:

NOMBRE

Fecha:

C.C.

Firma de TESTIGOS:

Fecha:

NOMBRE

C.C.

**PONENCIA DE LA ACCB**



## ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

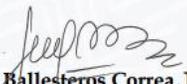
*Hace constar que el trabajo titulado*

**ACCB-0354 COMPONENTES LIPÍDICOS EN LAS SUBFRACCIONES DE  
HDL**

**Por los investigadores:**

Stevenson Gallo Ospina, Beatriz Restrepo, Nelsy Loango, Patricia Landázuri

Fue presentado en el marco del LIV CONGRESO NACIONAL &  
V INTERNACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, realizado en el Centro  
de Convenciones de Montería, del 20 -24 de mayo 2019.

  
Jesús Ballesteros Correa, PhD.  
Presidente del Congreso

