

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Iztacala

El papel de la Lipoproteína(a) en
presencia de lesiones arteriales
coronarias

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
JUAN GABRIEL JUAREZ ROJAS

DIRECTOR DE TESIS:
Dr. GUILLERMO CARDOSO SALDAÑA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



U.N.A.M. CAMPUS

JURADO:

IZT.

Presidente: M. en C. Eduardo Barrera Escorcía
Vocal: Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña
Secretario: M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras
1er. Suplente: Erick Monroy Pérez
2do. Suplente: Susana Esther González Almazan

ASESOR DE TESIS:



Dr. Guillermo C. Cardoso Saldaña

Investigador titular A del Depto. de Endocrinología
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

DEDICATORIA

*A mis padres,
a quienes me han heredado el tesoro más
valioso que puede dársele a un hijo,
AMOR.*

*A quienes sin escatimar esfuerzo alguno
han sacrificado gran parte de su vida
para formarme y educarme.*

*A quienes la ilusión de su vida
ha sido convertirme en persona de provecho,*

*A quienes nunca podre pagar todos sus desvelos
ni aún con las riquezas más grandes del mundo.*

POR ESTO Y MAS GRACIAS...

Agradecimientos:

A Mamá: Por todo el amor y la confianza que siempre depositaste en mí, por que aún en los momentos más difíciles me demostraste que podía contar contigo y con tu apoyo.

A Isabel, Miguel, Pati y Erick: Por todas esas experiencias que compartimos como familia, por que con su forma de ser, cada uno sembró un motivo que me impulso para poder alcanzar esta meta. A ustedes también les agradezco su apoyo y comprensión.

Al pequeño Edgarito †: Quien me mostró lo hermoso que puede ser vivir y que en poco tiempo podemos cumplir con nuestro cometido.

A Horacio: El amigo con el cual compartí la verdadera amistad y quien siempre me supo escuchar.

Al Dpto. de Endocrinología: Por la confianza y amistad que me han brindado todos y cada uno de ustedes desde que llegué al laboratorio.

Papá: Gracias por todo, por que con tu carácter me diste la fuerza necesaria para seguir adelante.

Al duende: Por su alegría e inocencia de niño con la cual ha venido a dar felicidad y un nuevo aire a la vida de la familia Juárez.

A Mari: Por tu comprensión, apoyo y motivación. Por que has venido a darle un rumbo distinto a todas esas fantasías que con el tiempo empezaban a perderse.

A Marcela: Quien me hizo creer en los sueños como parte de una ilusión alcanzable.

A José. Por estar siempre abierto y dispuesto a ayudar con sus conocimientos.

A Angelica: Por enseñarme que siempre es bueno tener una sonrisa para hacer la diferencia.

Al Dr. Posadas: La persona más dedicada que he conocido y quien se empeña siempre en ser y hacer mejor las cosas.

A la Universidad. La casa de todos aquellos que tienen deseos de superación, gracias por abrirme sus puertas.

A todos y cada uno de ustedes gracias por que sin su ayuda y apoyo no hubiera sido tan fácil alcanzar esta meta que ahora quiero compartirles.

Gracias te doy sobre todo a ti señor por darme la oportunidad de conocer las maravillas de este mundo.

A Guillermo: Por confiar en mí y por ser más que un director de tesis, una gran persona como maestro y amigo.

A Aida: La mujer que con su simpatía y madurez me ha enseñado a valorar más las cosas maravillosas.

A la Dra. Bravo: Por sus pocas pero muy sabias palabras que siempre tienen algo nuevo que enseñarme en el campo de la vida.

A mis Sinodales: Por el tiempo, la dedicación y el esfuerzo que pusieron en el presente trabajo.

A mis compañeros de la universidad: Por compartir con migo las alegrías y las decepciones de todo un camino que hoy concluye.

Un Tiempo para Creer

Creer es saber que cada día es un nuevo comienzo.

*Es confiar en que los milagros suceden y los sueños realmente se hacen
realidad.*

*Creer es ver ángeles bailando entre las nubes, sentir la maravilla de un
cielo estrellado y la sabiduría del hombre en la luna.*

*Creer es abrazar el valor de un corazón generoso , la inocencia de la
mirada*

*de la mirada de un niño y la belleza de la mano de un anciano, porque es a
través de sus enseñanzas que aprendemos a amar.*

*Creer es encontrar la fuerza y el coraje que yace dentro nuestro , cuando
es el momento de recoger las piezas y empezar de nuevo.*

*Creer es saber que nunca estamos solos, que la vida es un don, y que es
hoy nuestro tiempo de apreciarlo. Creer es saber que maravillosas sorpresas
están simplemente esperando suceder, y que todos nuestros sueños y
esperanzas están a nuestro alcance...*

Si tan sólo creemos...

Nancy

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	3
Capítulo I. Generalidades	3
Capítulo II. Factores de riesgo para ECV	8
Capítulo III. Lípidos, aterosclerosis y reparación de daño endotelial ...	12
Capítulo IV. Lipoproteína (a) y EAC	17
3. Antecedentes	20
4. Justificación	22
5. Objetivos	23
6. Material y métodos	24
7. Resultados	27
8. Discusiones	34
9. Conclusiones	40
10. Bibliografía	41

1. RESUMEN

Debido al acelerado incremento en la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas en los últimos cuarenta años en nuestro país, cada vez es más importante conocer los factores de riesgo de estos padecimientos, así como buscar sus posibles soluciones. Hoy en día es bien conocido que las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) tienen un origen multifactorial y algunos trastornos somáticos, así como diversas características del comportamiento individual pueden predisponer a esta enfermedad. La aterosclerosis coronaria es un proceso lento que se inicia en las primeras décadas de la vida y transcurre asintomático durante mucho tiempo. A partir de 1841 cuando Vogel demostró la presencia de colesterol en la placa aterosclerosa, se comenzaron a proponer diversas hipótesis en torno a la relación de las concentraciones de colesterol y la gravedad del daño causado por la placa. Aunque el colesterol se asocia con la ECV, existen muchos otros factores que pueden predisponer a este padecimiento.

La lipoproteína(a), es un complejo lipoproteico con peso molecular de 800 a 1300 kDa y que esta compuesta por un centro lipídico, una apoB-100 y una glicoproteína llamada apolipoproteína(a). En contraste con otras lipoproteínas, las concentraciones de lipoproteína [Lp(a)] en suero varían de menos de 1 mg/dL a más de 100 mg/dL y se mantienen constantes en el transcurso de la vida. En la molécula de apo(a) el kringle IV tipo 2 se presenta en un número variable de repeticiones, lo que da origen a una heterogeneidad estructural de la apo(a) y a isoformas de diferente tamaño con pesos moleculares entre 280 y 800 kDa. Algunos estudios epidemiológicos han mostrado que el tamaño de las isoformas de la apo(a) tiene una relación inversa con la concentración plasmática de la Lp(a). Aunque en la actualidad no se conoce con certeza cuál es su función en el organismo, se tienen datos que la Lp(a) aporta colesterol desde el hígado a los órganos que sintetizan hormonas esteroideas y a las células de los tejidos en proceso de reparación.

Diversos resultados de estudios epidemiológicos han demostrado que la disminución del colesterol total en plasma, sólo reduce de un 25% a 35% los eventos cardiovasculares. Uno de los factores que ha provocado gran interés por su participación en el desarrollo de la placa aterosclerosa es la Lp (a). Algunos estudios han demostrado que la Lp(a) y las

isoformas de la apo(a), están involucradas en el desarrollo de las placas aterosclerosas; por tal motivo, la identificación de los fenotipos de apo(a) así como la determinación de la concentración de Lp(a) en plasma de sujetos sin manifestaciones clínicas, pero con antecedentes genéticos y/o ambientales del desarrollo de la placa aterosclerosa, podrían ser utilizados como indicadores de daño; así como del grado de lesión vascular en pacientes con aterosclerosis establecida.

En el presente estudio se seleccionaron 48 pacientes cardiopatas y se compararon con sujetos aparentemente sanos. Los resultados indican que la Lp(a) fue el único factor lipídico que difirió entre ambos grupos ($p = 0.018$); además de que al hacer el análisis comparativo de la distribución de isoformas de la apolipoproteína(a), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.220$). Al realizar el análisis de correlación entre la severidad de la lesión y la concentración plasmática de la lipoproteína(a), se encontró que la Lp(a) está directamente asociada con la presencia de un mayor daño vascular.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran la asociación tanto de las concentraciones de la Lp(a) como de los tamaños de isoformas de la apo(a), con la presencia de un mayor índice de lesión vascular en pacientes cardiopatas. Sin embargo, la cuestión de cuándo estas proteínas pueden ser un factor causal o sólo un marcador de los procesos ateroscleróticos aún queda por ser bien definida.

2. INTRODUCCIÓN

CAPITULO I: Generalidades.

Debido al acelerado incremento en la prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas en los últimos cuarenta años en nuestro país, cada vez es más importante conocer los factores de riesgo de estos padecimientos, así como buscar sus posibles soluciones¹. De acuerdo con los últimos datos reportados por el INEGI en cuanto a las principales causas de muerte en México, las enfermedades crónico degenerativas y en particular las de tipo cardiovascular ocupan los primeros lugares (Tabla 1); por lo que en la actualidad un gran número de investigadores han buscado identificar el origen y las posibles soluciones de estos padecimientos².

Hoy en día es bien conocido que las Enfermedades Cardiovasculares (ECV) tienen un origen multifactorial y algunos trastornos somáticos (alteración del metabolismo de lípidos, hipertensión arterial y diabetes mellitus) así como diversas características del comportamiento individual (tabaquismo, hábitos alimentarios, sedentarismo, etc.) pueden ser predisponentes de esta enfermedad³; la cual es un padecimiento crónico-degenerativo caracterizado por la presencia de lesiones arteriales que provocan un engrosamiento de la pared vascular e impiden el libre flujo de la sangre (aterosclerosis). La aterosclerosis coronaria es un proceso lento que se inicia en las primeras décadas de la vida y transcurre asintomático durante mucho tiempo. El paso inicial de la formación de la placa aterosclerosa es la acumulación de lipoproteínas en el sub-endotelio; lo cual provoca la migración de monocitos y posteriormente la formación de macrófagos y células espumosas secretoras de sustancias quimiotóxicas

Tabla 1. Principales Causas de Mortalidad General en los Estados Unidos Mexicanos, 1999

No. de Orden	C a u s a	Defunciones	Tasa 1/
1	Enfermedades del corazón	69,278	70.6
	- Enfermedades isquémicas del corazón	44,070	44.9
2	Tumores malignos	53,662	54.7
3	Diabetes mellitus	45,632	46.5
4	Accidentes	35,690	36.4
	- Accidentes de tráfico de vehículos de motor	11,659	11.9
5	Enfermedades del hígado	27,040	27.6
	- Enfermedad alcohólica del hígado	13,417	13.7
6	Enfermedades cerebrovasculares	25,836	26.3
7	Ciertas afecciones originadas en el período perinatal	19,268	19.6
	- Dificultad respiratoria del recién nacido y otros trastornos respiratorios originados en el período perinatal	10,042	10.2
8	Influenza y Neumonía	14,068	14.3
9	Agresiones (homicidio)	12,249	12.5
10	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	11,319	11.5
	Total	443,950	452.4

1/Tasa por 100,000 habitantes.

Fuente: INEGI, SSA/DGEL, 1999

que inducen la migración y proliferación de las células musculares dando origen a una placa blanda rica en lípidos y con una capa fibrosa delgada (Figura 1). Con el tiempo las placas se hacen más duras y fibrosas, lo que aumenta el grado de obstrucción de la luz arterial. Cuando

la placa obstruye más de un 70% de la luz coronaria aunque el flujo coronario en reposo pueda ser adecuado, si aumentan los requerimientos miocárdicos de O₂ (mayor actividad física o ejercicio) se produce isquemia; al progresar la obstrucción, la isquemia puede aparecer incluso en reposo o con esfuerzos mínimos. Por último, puede llegarse a la oclusión completa, a la que puede contribuir un trombo sobreañadido a la placa aterosclerosa. Pero incluso en este caso, es probable que no se produzca necrosis del tejido irrigado por la arteria enferma, pues la naturaleza lenta y progresiva del proceso pudo haber dado lugar al desarrollo de circulación colateral. La necrosis, con frecuencia, puede producirse si se rompe una placa blanda, no obstructiva. Al romperse se exponen a la sangre circulante el material subyacente en su interior que es altamente trombogénico y que puede dar lugar a un coágulo que produce una obstrucción completa de la luz del vaso, con la consiguiente interrupción del flujo coronario. La zona irrigada por el vaso afectado, sin circulación colateral, producirá una necrosis del miocárdio. Si la duración de la oclusión es durante un periodo corto de tiempo, puede producirse una isquemia prolongada (angina inestable) o un infarto completo (infarto sin onda Q en el electrocardiograma). Esto ocurre cuando el trombo correspondiente se disuelve, permitiendo el restablecimiento del flujo antes de que muera el tejido comprometido. En el caso de las placas obstructivas, fibrosas, su composición las hace resistentes a la rotura; cuando la oclusión producida por ellas es lo suficientemente grave (más del 70%) se produce isquemia transitoria durante la actividad física (angina estable)⁴⁻⁶.

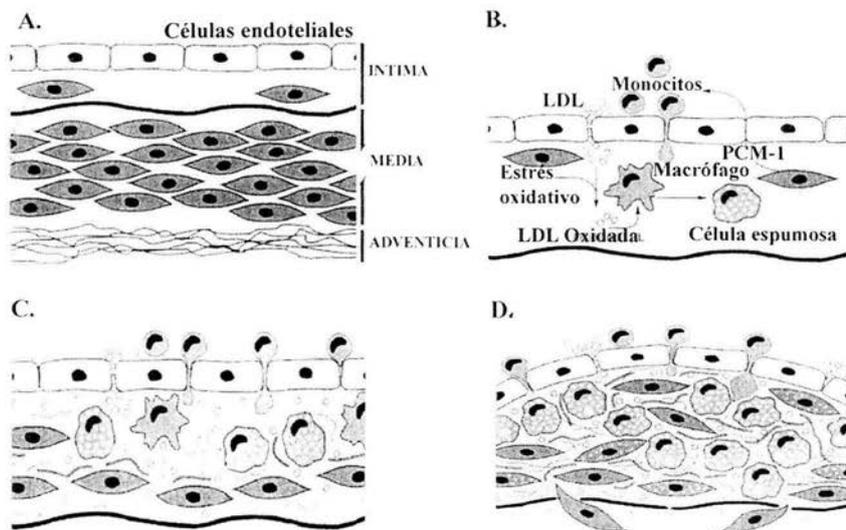


Figura 1. Aterogénesis: en condiciones normales, las células endoteliales forman una barrera que impide el libre flujo de partículas ajenas hacia la intima arterial (A); sin embargo cuando el endotelio se encuentra dañado, algunas partículas como las lipoproteínas pueden migrar hacia la íntima en donde son reconocidas por los monocitos que las capturan en grandes cantidades hasta formar los macrófagos y posteriormente las células espumosas (B). Las células espumosas secretan sustancias citotóxicas que promueven la proliferación y migración de las células musculares lisas hasta formar una placa aterosclerótica que impide gradualmente el libre flujo sanguíneo.

A partir de 1841 cuando Vogel demostró la presencia de colesterol en la placa aterosclerótica, se comenzaron a proponer diversas hipótesis en torno a la relación de las concentraciones de colesterol y la gravedad del daño causado por la placa; entre esas hipótesis destacan *la teoría de los lípidos y la del daño endotelial*. La primera relaciona la formación de la placa aterosclerótica con penetración de los lípidos en la pared del vaso, con lo cual se favorece la formación de células espumosas que secretan sustancias quimiotóxicas y provocan la migración de las células del músculo liso hacia la luz vascular. La segunda, propone que la aterosclerosis es provocada por un daño en el endotelio vascular, lo cual activa una respuesta de agregación plaquetaria y de ciertos factores de crecimiento que inducen la proliferación de las células del músculo liso y macrófagos. Una hipótesis conocida hoy en día como “hipótesis

unificada de la aterogénesis⁷⁷ reúne los aspectos más relevantes de las distintas hipótesis creadas y es sintetizada en la figura 2.

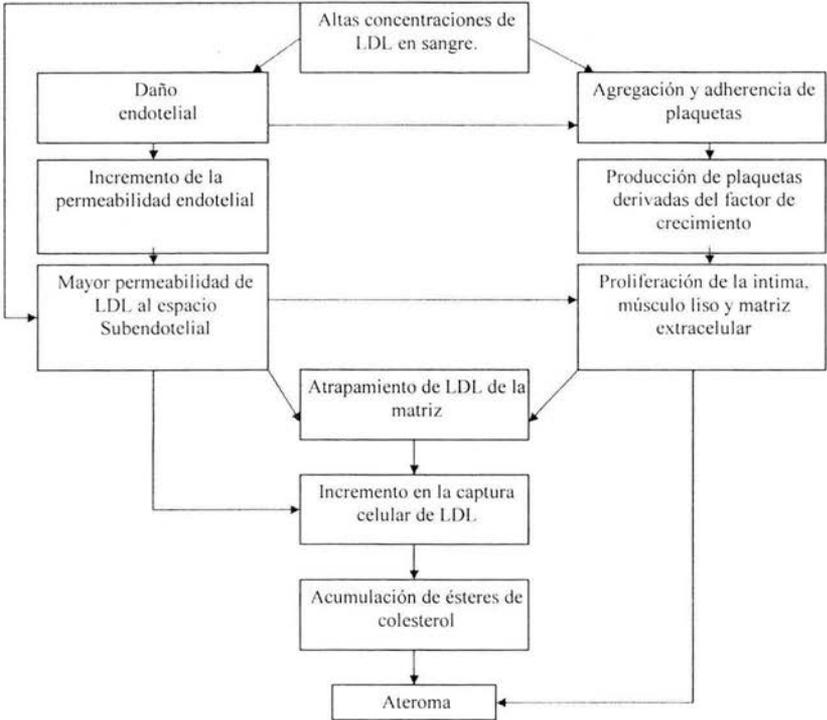


Figura. 2. La teoría unificada de la aterogénesis es una síntesis de otras como la del daño endotelial o la de lípidos. Esta teoría asocia las concentraciones elevadas de lípidos en sangre (especialmente colesterol de lipoproteínas de baja densidad ó LDL.) con daño en la función endotelial; lo cual permite una alta permeabilidad, al espacio subendotelial, de las lipoproteínas y otras moléculas. Otros eventos como la agregación plaquetaria, la proliferación de la intima, del músculo liso, y de la matriz extracelular, provocan cambios en la pared vascular que pueden culminar con el desarrollo de un ateroma.

CAPÍTULO II: Factores de riesgo para ECV

Como ya se mencionó, el colesterol se asocia con la ECV, sin embargo, existen muchos otros factores que pueden predisponer a este padecimiento, entre los principales podemos mencionar los siguientes:

EDAD: El riesgo de ECV se incrementa con la edad (Figura 3A). La edad también tiene importantes consecuencias sobre otros factores de riesgo para esta y otras enfermedades como el incremento de la presión sanguínea⁸.

GENERO: El riesgo de muerte por enfermedades cardiovasculares es mayor en hombres que en mujeres (Figura 3B); aunque como se aprecia en la figura 3C y 3D, esta diferencia declina con el incremento de la edad cuando se conjugan otros factores como la hipertensión y la diabetes mellitus (D.M.); se calcula que hasta antes de los 75 años el riesgo en los hombres es de 2 a 3 veces mayor que en las mujeres⁸.

DIABETES: Estudios observacionales han demostrado un aumento en el riesgo de ECV en pacientes diabéticos. La causa de la muerte en el 70-80% de los pacientes diabéticos es la ECV, la enfermedad cerebrovascular o la arteriopatía periférica. La diabetes frecuentemente coexiste con otros factores de riesgo. La hipertensión arterial (HTA) y la obesidad son comunes en pacientes diabéticos y la dislipidemia típica de la diabetes es el aumento de triglicéridos y el descenso del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) junto con la presencia de LDL pequeñas y densas. Además, la aterosclerosis en pacientes diabéticos se

complica con una mayor agregabilidad plaquetaria y un aumento del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1)⁸.

HIPERTENSION: Las diferencias en cuanto a las cifras de presión sanguínea como factor de riesgo de ECV, se ha asociado con otros factores de riesgo (diabetes, tabaquismo, sedentarismo, etc.) y en promedio la hipertensión, eleva de 2 a 3 veces el riesgo de padecer ECV o cualquier evento de tipo cardiovascular⁸ (Figura 3D).

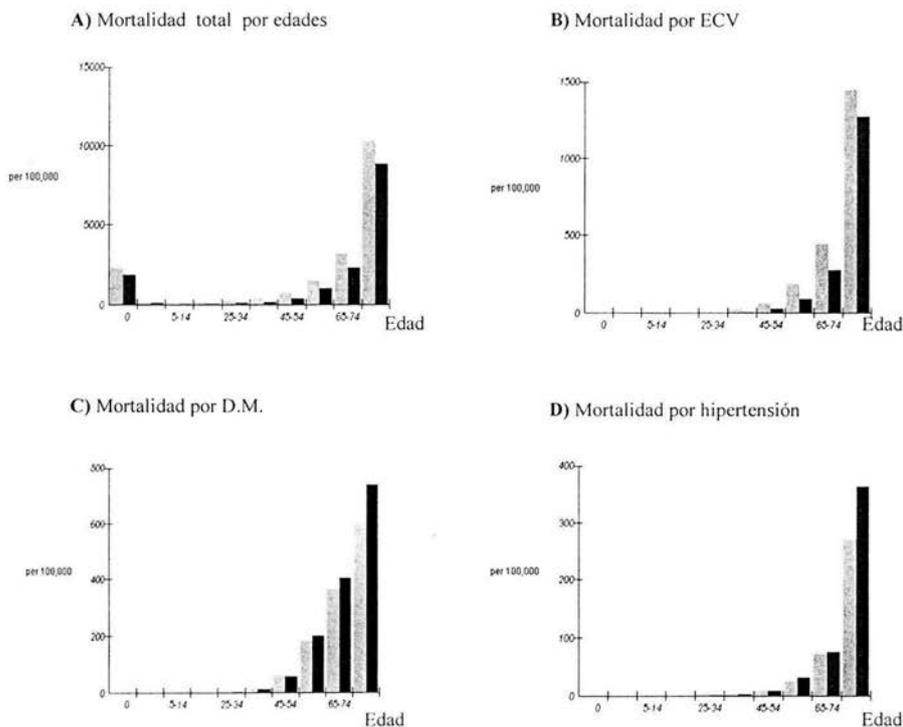


Figura 3. Cifras de mortalidad en México originadas por diversas causas y de acuerdo a la edad y el sexo. Los datos reportados abarcan hasta el año de 1995 y son reportados por la Global Cardiovascular Infobase. Las barras oscuras representan a las mujeres y las barras claras a los hombres.

TABAQUISMO: El tabaquismo incrementa el riesgo de ECV e infarto en todas las edades, pero es de particular importancia en sujetos jóvenes; en hombres menores de 65 años el riesgo se incrementa al doble comparándolos con los no fumadores, mientras que en hombres de 85 o más incrementa el riesgo aumenta hasta un 20%⁸. El efecto del consumo de tabaco produce disminución de los niveles de colesterol de HDL y disfunción de estas lipoproteínas. Además, el fumar produce una disminución del flujo coronario por vasoconstricción, altera la función del endotelio, aumenta las concentraciones de fibrinógeno y favorece la agregación plaquetaria, la cual predispone tanto al desarrollo de lesiones ateroscleróticas como a la trombosis. Se estima que en México, la prevalencia de enfermedades cardiovasculares originadas por tabaquismo es de 30.9%⁹.

OBESIDAD: La importancia de la obesidad (IMC = kilogramos de peso/talla en metros²) es cada día mayor. Esto se debe a su elevada prevalencia e incidencia como factor de riesgo cardiovascular independiente, así como a su asociación con otras condiciones patológicas también involucradas con problemas cardiovasculares (hipertensión arterial, hiperlipidemia, diabetes mellitus e intolerancia a la glucosa)^{10,11}. En México, según la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas de 1995 la prevalencia de obesidad a nivel nacional es de 21% y, considerando como método de diagnóstico el IMC, alrededor del 60% de la población mexicana presenta sobrepeso¹². Además del IMC, la distribución de la grasa corporal también puede determinar el riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, ya que se ha comprobado que en individuos delgados con mayor proporción de masa grasa existe un riesgo mayor de padecer estas manifestaciones¹³.

OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR. Factores hemostáticos como valores elevados de factor VII de la coagulación o de fibrinógeno y una menor actividad

fibrinolítica se asocian con los eventos cardiovasculares. Una menor actividad fibrinolítica puede ser debida a aumento de las concentraciones de PAI-1, que se ha relacionado con las concentraciones de triglicéridos e insulina¹⁴.

Concentraciones elevadas de homocisteína sérica (>16.2 nmol/l) se han asociado de manera independiente con un aumento de los eventos ateroscleróticos tanto coronarios como periféricos. La deficiencia de vitamina B₆ y B₁₂ y de ácido fólico puede causar aumento de la homocisteína plasmática y suplementos de estas vitaminas pueden disminuirla. La causa de un mayor riesgo no está clara, pero parece que la hiperhomocisteinemia podría producir daño endotelial y alteraciones de la coagulación¹⁵.

Estudios epidemiológicos sugieren que el consumo moderado de alcohol ejerce un papel protector ante la cardiopatía isquémica. Sin embargo, el mecanismo subyacente no está claro. El aumento de colesterol de HDL parece ser el principal efecto, pues el beneficio atribuible al descenso del colesterol de LDL es contrarrestado por el aumento de la tensión arterial. El alcohol parece inhibir la trombosis al inducir un aumento en la liberación endotelial del activador tisular del plasminógeno (t-PA). El alcohol también inhibe la agregación plaquetaria y el vino tinto ejerce un efecto antioxidante¹¹.

CAPÍTULO III: Lípidos, aterosclerosis y reparación de daño endotelial

METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS: Los lípidos son moléculas insolubles en agua que pueden clasificarse como complejos y simples; los primeros están representados por los triglicéridos, el colesterol y los fosfolípidos que son los principales lípidos en el organismo; los miembros del segundo grupo no contienen ácidos grasos, y en él se incluyen algunas vitaminas, hormonas y las prostaglandinas. Para que los lípidos puedan ser transportados en el medio acuoso del plasma, se asocian con proteínas específicas denominadas *apoproteínas* o *apolipoproteínas*; formando las lipoproteínas con características fisicoquímicas, metabólicas y estructurales específicas. La mayor parte del colesterol circulante se sintetiza endógenamente en el hígado, es un componente de las membranas celulares que puede ser utilizado como precursor de esteroides y ácidos biliares. En contraste, los triglicéridos que también se sintetizan en su mayoría en el hígado, son la principal fuente de energía. Las principales vías a través de las cuales las lipoproteínas transportan energía y colesterol del hígado a los tejidos, son la vía endógena, la vía exógena y el transporte reverso de colesterol¹⁴.

En la biosíntesis endógena de los lípidos, el paso inicial es la producción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); estas moléculas son ricas en triglicéridos, colesterol esterificado y fosfolípidos, y sus principales apolipoproteínas son la apoB-100, apoE y apoCII (Tabla 2)¹⁶. La apoCII es el cofactor de la lipasa lipoproteica (LLP); que hidroliza los triglicéridos de las VLDL generando ácidos grasos libres (AGL) y otra lipoproteína con menor concentración de triglicéridos llamada lipoproteína de densidad intermedia (IDL). La IDL conserva la apoCII y es reconocida por la lipasa hepática (LH) que hidroliza sus TG. Los AGL son captados por el tejido adiposo y el músculo para el

almacenamiento y la obtención de energía, respectivamente. La partícula resultante de la degradación de las IDL, es la lipoproteína de baja densidad (LDL) que se caracteriza por su elevado contenido de colesterol esterificado y por la apoB-100 como única apolipoproteína. La LDL que se encuentra en circulación es reconocida por un receptor específico para apoB-100 (captación selectiva) y el colesterol contenido en esta partícula es utilizado para síntesis de ácidos biliares (Figura 4)^{14, 17}.

Tabla 2. Composición química de las lipoproteínas

	Quilomicrones	VLDL	IDL	LDL	HDL
Densidad (g/L)	<0.96	0.96 a 1.006	1.006 a 1.019	1.019 a 1.063	1.063 a 1.210
Triglicéridos (%)	80 a 95	55 a 80	20 a 50	5 a 15	5 a 10
Colesterol (%)	2 a 7	5 a 15	20 a 40	40 a 50	15 a 25
Fosfolípidos (%)	3 a 9	10 a 20	15 a 25	20 a 25	20 a 30
Proteínas (%)	2	8		20	50
Apolipoproteínas	C-III, C-II, C-I, B-48, A-I, A-II y E	C-III, B-100 y E	B-100, Cs y E	B-100	A-I, A-II, Cs y E

La vía exógena se inicia con la biosíntesis de quilomicrones (Qm) a partir de las grasas absorbidas en la dieta y de la apo B-48 sintetizada en el enterocito. Los quilomicrones son transportados por el conducto torácico a la circulación sanguínea donde los TG, son hidrolizados por la lipasa lipoproteica produciendo AGL (igual que como ocurre en la vía endógena con las VLDL) y partículas remanentes de quilomicron; estos tienen una proporción baja de triglicéridos y son captados por el hígado, mediante un receptor para apoE, para la posterior síntesis de lipoproteínas o ácidos biliares^{12, 14}.

En cuanto al transporte reverso de colesterol (Figura 4), las lipoproteínas que contienen apo B, intercambian triglicéridos por colesterol esterificado (CE) de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) que son sintetizadas en el hígado (HDL nativas), captan colesterol libre (CL) de los tejidos periféricos y lo esterifican a través de la enzima lecitina colesterol acil transferasa (LCAT) formando a las HDL maduras; posteriormente el CE de la HDLm es intercambiado por triglicéridos mediante la proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC). Una vez que las HDL llevan a cabo el intercambio de los ésteres de colesterol por triglicéridos, estas pueden ser eliminadas del organismo o reutilizadas para seguir captando más colesterol libre¹⁷.

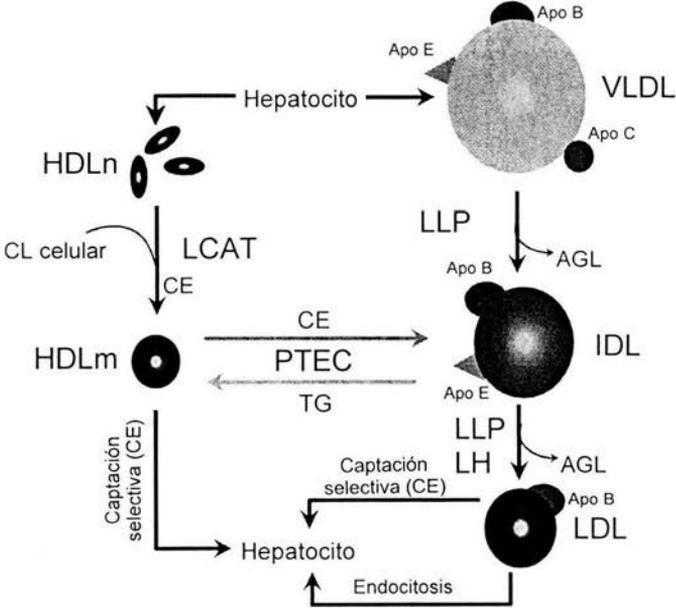


Figura 4. Metabolismo endógeno de las lipoproteínas.

Resultados de estudios epidemiológicos, clínicos, de biología celular y experimentales¹⁸⁻²¹, han demostrado que cuando el metabolismo de los lípidos se encuentra alterado, suele asociarse a complicaciones cardiovasculares. Estos estudios han mostrado que cuando aumenta la captación y susceptibilidad de oxidación de las lipoproteínas en el endotelio, se provoca la acumulación de lípidos y otras partículas; las cuales desencadenan una serie de eventos e inician la atracción de monocitos que las fagocitan y forman macrófagos que posteriormente dan origen a las células espumosas secretoras de sustancias quimioatrayentes que inducen la migración de células del músculo liso hacia la luz vascular e inician el engrosamiento de la pared vascular y posteriormente el desarrollo de la placa aterosclerosa y eventualmente la oclusión de la luz vascular que impide el libre flujo sanguíneo (Figura 5).

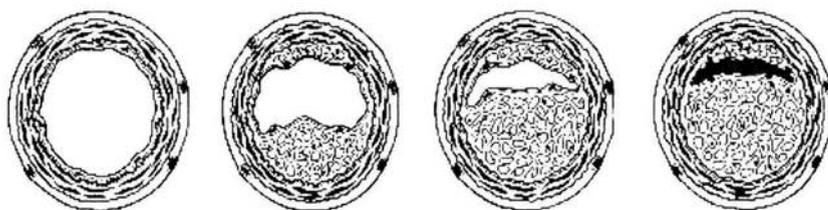


Figura 5 Oclusión de la luz vascular por formación de placa aterosclerosa.

Como se puede apreciar, los daños ateroscleróticos causados por los lípidos pueden ser de gran trascendencia, sin embargo, no todas las lesiones son graves y actualmente es bien conocido que los depósitos de fibrina en el interior de los vasos sanguíneos, además de otros procesos homeostáticos reparadores, permite devolver sus funciones al endotelio vascular después de una lesión de tipo aterosclerosa.

Cuando un vaso sanguíneo es dañado, se inicia una serie de eventos que conducen a la formación de un coágulo, cuya reacción fundamental es la conversión de la proteína

plasmática soluble, fibrinógeno, a fibrina insoluble. La fibrina es inicialmente una red laxa, que se convierten luego en un agregado denso, apretado por la formación de enlaces covalentes entrecruzados. La formación de estos coágulos dentro de los vasos sanguíneos se denomina trombogénesis, y permite a los tejidos llevar a cabo la reparación de las lesiones para su adecuado funcionamiento *homeostasia*. Una vez que se ha llevado a cabo la reparación de la lesión, el sistema fibrinolítico destruye los depósitos de fibrina remanentes de la actividad homeostática o incluso los que se van formando durante la evolución de la placa aterosclerosa²²; para que la fibrinólisis pueda llevarse a cabo, el plasminógeno (proteína plasmática), se une a la fibrina en un sitio de alta afinidad conocido como sitio de unión a la lisina (LBS), que le permite orientarlo adecuadamente a su activador tisular (t-PA) para generar plasmina (enzima proteolítica) y así llevar a cabo la degradación de la fibrina (Figura 6), alcanzando un balance entre los activadores del plasminógeno y los inhibidores de estos activadores (PAI-1)²³.

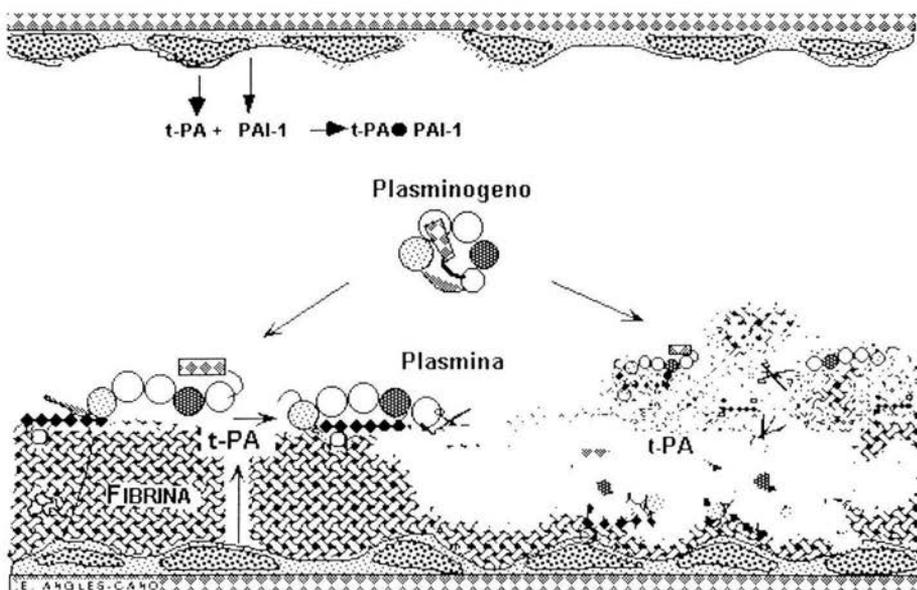


Figura 6. Mecanismo de acción del plasminógeno en la degradación de la fibrina.

CAPÍTULO IV: Lipoproteína (a) y EAC.

La Lp (a), descubierta a principios de los años sesenta por Berg²⁴, es un complejo lipoproteico similar a la LDL (Tabla 3), con peso molecular de 800 a 1300 kDa. La principal diferencia entre estas lipoproteínas radica en que la Lp(a), tiene además de la apoB-100 otra glicoproteína, la apo(a) que se une a través de un puente disulfuro con apoB-100 y es estabilizada por puentes de hidrógeno e interacciones Van der Waals²⁵⁻²⁷.

TABLA 3: Propiedades fisicoquímicas y composición de Lp(a) y LDL.

Propiedades	Lp(a)	LDL
Diámetro Å°	269 ± 12	206 ± 29
Movilidad electroforética	pre beta	Beta
Punto isoeléctrico	4.9	5.6
Densidad hidratada	1.055 - 1.12	1.02 - 1.063
Apolipoproteínas	Apo(a), Apo B-100	Apo B-100
Proteínas (%)	27- 30.9	22.4
Colesterol (%)	7.9	8.5
Ester de colesterol (%)	37.1	40.7
Triglicéridos (%)	19	21.3
Fosfolípidos (%)	5	7.1

En contraste con otras lipoproteínas, las concentraciones de Lp(a) en plasma varían de menos de 1 mg/dl a más de 100 mg/dl y se mantienen constantes en el transcurso de la vida; además, factores como la edad, género, dietas, presión sanguínea, tabaquismo, colesterol total o triglicéridos, no ejercen ninguna influencia sobre ellas^{28,29}; sin embargo, en sujetos con enfermedades como la diabetes mellitus, hipertiroidismo o disfunciones renales, los valores de

Lp(a) suelen incrementarse³⁰. Aunque en la actualidad no se conoce con certeza cuál es su función en el organismo, se tienen datos que la Lp(a) aporta colesterol desde el hígado a los órganos que sintetizan hormonas esteroideas³¹ y a las células de los tejidos en proceso de reparación³².

El plasminógeno y la apo(a), tienen diferente número de unidades estructurales llamados kringles, a través de los cuales reconocen y se unen a otras macromoléculas y/o a sitios específicos de la membrana celular (Figura 6)³³. En la molécula de apo(a) el kringle IV tipo 2 (K IV tipo 2) se presenta en un número variable de repeticiones, lo que da origen a una heterogeneidad estructural de la apo(a) y a isoformas de diferente tamaño con pesos moleculares entre 280 y 800 kDa. El K IV tipo 2 permite la unión de Lp(a) a la lisina³⁴, e impide el acceso del plasminógeno a las redes de fibrina; inhibiendo así su activación mediante el activador tisular del plasminógeno (t-PA) que sirve para formar plasmina y llevar a cabo la fibrinólisis^{23, 35, 36}.

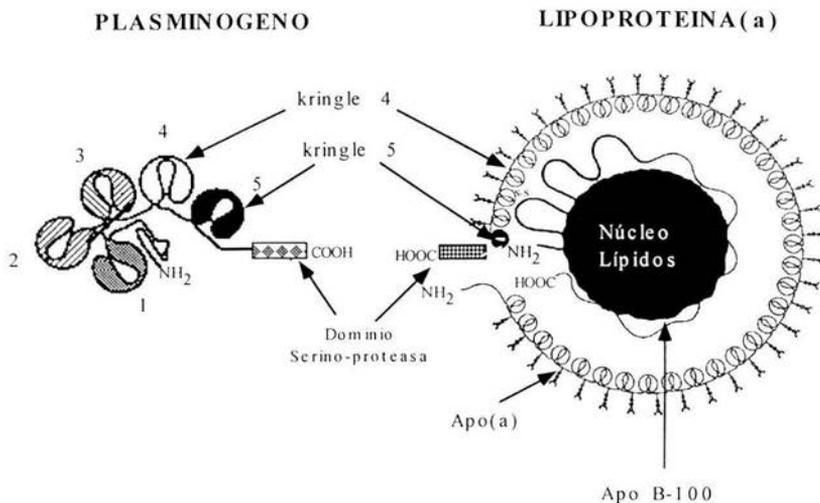


Figura 6. Estructura química del plasminógeno y la Lipoproteína (a).

Algunos estudios epidemiológicos han mostrado que el tamaño de las isoformas de la apo(a) tiene una relación inversa con la concentración plasmática de la Lp(a), probablemente como consecuencia de un retraso en la velocidad de síntesis de las isoformas de mayor tamaño. Actualmente se considera que el gen de apo(a) contribuye en casi 90% en la regulación de la concentración plasmática de Lp(a)³⁷.

La semejanza entre el plasminógeno y la apolipoproteína (a) permite que las diferentes isoformas de apo(a) compitan por los sitios de afinidad de la fibrina generando así una insuficiencia fibrinolítica que favorece la trombogénesis (Figura 7). Numerosos investigadores han mostrado que la presencia de isoformas de apo(a) con menos de 17 copias del kringle IV tipo 2 tienen una mayor afinidad por los sitios de unión a la lisina y por lo tanto son consideradas como más trombogénicas³⁸⁻⁴⁰.

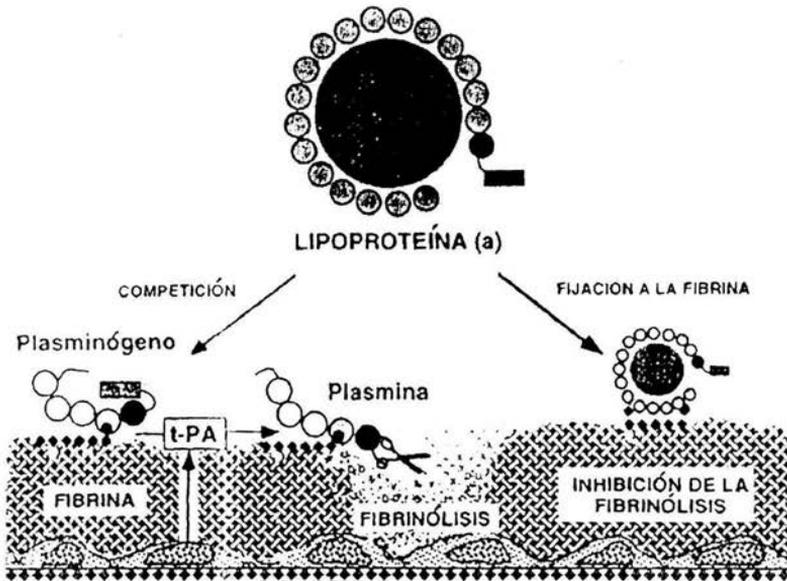


Figura 7. Inhibición de la fibrinólisis por competencia de la Lp(a) con el plasminógeno.

3. ANTECEDENTES

Diversos resultados de estudios epidemiológicos han demostrado que la disminución del colesterol total en plasma, solo reduce de un 25% a 35% los eventos cardiovasculares; es decir, un porcentaje elevado de los sujetos tratados sigue teniendo un riesgo importante de aterosclerosis; por otro lado, algunos pacientes que tienen colesterol elevado en sangre, nunca desarrollan aterosclerosis; lo cual probablemente indica que otros factores de riesgo, independientes del colesterol participan en el desarrollo de este padecimiento^{41,42}. Uno de los factores que ha provocado gran interés por su participación en el desarrollo de la placa aterosclerosa es la lipoproteína(a) [Lp (a)]. Las cifras altas de esta lipoproteína (mayor de 30 mg/dl) se asocian con un riesgo de enfermedad cardiovascular comparable, en magnitud y gravedad, al que se atribuye a valores elevados de colesterol total (>240 mg/dL) o de colesterol de LDL (> 130 mg/dL)⁴³⁻⁴⁵ pero además es un factor de riesgo independiente para el desarrollo prematuro (antes de los 55 años) de arteriosclerosis⁴⁶⁻⁴⁹.

Estudios realizados en pacientes con infarto agudo al miocardio, espasmos coronarios y/o angina de pecho han mostrado que la Lp(a) es uno de los principales factores de riesgo de este tipo de manifestaciones en ECV^{47, 49-51}. Además, el amplio polimorfismo de la apo(a) se ha estudiado con el objeto de establecer su asociación con la ECV y los resultados obtenidos son controversiales; ya que en algunos trabajos las isoformas pequeñas o de bajo peso molecular se han asociado con concentraciones elevadas de Lp(a) y con la enfermedad arterial coronaria^{38, 49,52}; mientras que en otros no se han encontrado dichas asociaciones e incluso se

ha reportado que son las isoformas grandes o de mayor peso molecular las que se asocian con concentraciones elevadas de Lp(a) y con el desarrollo de la enfermedad^{53, 54}.

4. JUSTIFICACIÓN

Aunque en los últimos años se ha avanzado en el estudio de la Lp(a), existen resultados contradictorios y son muchos los aspectos genéticos, bioquímicos, metabólicos y clínicos que aún no conocemos de esta lipoproteína. El riesgo aterogénico que se atribuye a la Lp(a) cada vez adquiere mayor relevancia. Algunos estudios han demostrado que la Lp(a) y las isoformas de la apo(a), están involucradas en el desarrollo de las placas aterosclerosas; por tal motivo, la identificación de los fenotipos de apo(a) así como la determinación de la concentración de Lp(a) en plasma de sujetos sin manifestaciones clínicas, pero con antecedentes genéticos y/o ambientales del desarrollo de la placa aterosclerosa, podrían ser utilizados como indicadores de daño; así como del grado de lesión vascular en pacientes con aterosclerosis establecida.

5. OBJETIVOS

- 5.1) Identificar y comparar la distribución de isoformas de apo(a) en pacientes cardiopatas y sujetos sanos.
- 5.2) Determinar la relación de los tamaños de las isoformas de apo(a) con la concentración de Lp(a) en ambos grupos.
- 5.3) Comparar la concentración de Lp(a) de pacientes cardiopatas con diferentes grados de lesión vascular.
- 5.4) Determinar la posible asociación de la concentración de Lp(a) con el grado de lesión en los pacientes cardiopatas.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de pacientes y controles:

El presente estudio incluyó 48 pacientes del “Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez” (INCICh), de sexo masculino, con una edad media de 58.58 (\pm 8.91) años, con angina de pecho (AP) o infarto agudo al miocardio (IAM), que fueron sometidos a cateterismo para evaluar la presencia y el grado de aterosclerosis. El grupo control lo integraron 35 sujetos aparentemente sanos que no tenían antecedentes de EAC. Fueron excluidos los pacientes con diabetes mellitus, hipertiroidismo o disfunciones renales; así como aquellos que presentaran manifestaciones clínicas (AP, IAM) o que hubieran sido sometidos a cualquier tipo de cirugía en los tres meses previos a la toma de la muestra; ya que como se menciona en la introducción, estos factores pueden estar involucrados en la modificación de las concentraciones plasmáticas de la Lp(a).

Índice de lesión vascular:

La severidad de la lesión vascular de cada paciente fue determinada por medio de técnicas estandarizadas de cateterismo y medicina nuclear realizadas en el INCICh, que permitieron conocer el porcentaje de oclusión y el grado de isquemia respectivamente. El índice de la lesión se obtuvo sumando la obstrucción máxima de las tres principales arterias coronarias (Descendente Anterior, Coronaria Derecha y Circunfleja Izquierda; clasificadas de la siguiente forma: obstrucción de 0 a 30% = 1 punto; obstrucción de 31 a 60% = 2 puntos; y obstrucciones \geq 61% = 3 puntos) así como el grado de isquemia (isquemia ligera = 1 punto; isquemia moderada = 2 puntos; isquemia grave = 3 puntos)^{55, 56}; de tal forma que el valor mínimo del índice de lesión fue de 4 y el máximo de 12. Para la estratificación del grupo de pacientes en terciles de acuerdo al índice de lesión, se realizó una prueba estadística de

Kurtosis, y se determinó que los sujetos con un puntaje menor o igual a 6 se tomarían como los menos dañados; mientras que aquellos que tuvieran 10 o más puntos serían los más dañados, quedando intermedios los que tuvieran de 7 a 9 puntos.

Determinaciones bioquímicas:

Las determinaciones de lípidos y lipoproteínas, se realizaron en plasma obtenido de sangre venosa colectada en tubos vacutainer con EDTA (1mg/ml), la colecta sanguínea se realizó por punción del antebrazo una vez que el paciente había reposado de 15 a 20 minutos y con previo ayuno de 10 a 12 horas. La sangre se centrifugó en frío a 2500 r.p.m. durante 20 minutos y el plasma fue separado para dividirlo en alícuotas a las que se le añadieron inhibidores de proteasas (PMSF 0.01M 10 µl/mL, Aprotinina 5 KIU/µl, Benzamidina 0.10M 10 µl/mL) y se almacenaron a -70°C para posteriormente poder analizar bajo las mismas condiciones tanto las isoformas de la apo(a) como las concentraciones plasmáticas de Lp(a).

Las concentraciones de colesterol total, lipoproteínas de alta densidad, triglicéridos y glucosa fueron determinadas en muestras sin congelar por métodos enzimáticos en un autoanalizador (Hitachi 705) con reactivos de Boehringer Mannheim^{57, 58}. La cuantificación del colesterol de HDL se hizo por el método de precipitación de lipoproteínas que contienen apo-B, con ácido fosfotúngstico/Mg⁵⁹. Todas estas determinaciones se realizaron bajo un estricto control de calidad certificado por el CDC (Center for Disease Control and Prevention) de Atlanta, Georgia (E.U.A.). Las lipoproteínas de baja densidad fueron calculadas con la fórmula de Friedewald modificada por De Long y col⁶⁰. La concentración de Lp(a) fue cuantificada por nefelometría cinética⁶¹. La identificación de los fenotipos de apo(a) se realizó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS, seguida de un inmunoblot en el que se

uso un anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra la apo(a)⁶². Para estas determinaciones se empleó una curva patrón de apo(a) recombinante con isoformas de 10, 14, 18, 26 y 34 Kringles en la que se interpoló la tasa de migración (Rf) de las muestras problema⁶².

Análisis estadístico:

Debido a las características asimétricas de la distribución de las concentraciones la Lp(a), se aplicaron las pruebas de U de Mann-Whitney y de Kolmogorov-Smirnov para la comparación de las concentraciones de esta lipoproteína entre los dos grupos; el análisis de los demás parámetros bioquímicos se realizó por ANOVA, y la correlación de las isoformas de apo(a) con la concentración de Lp(a) se determinó por análisis de regresión de Pearson. Todos los valores con una $P < 0.05$ fueron tomados como estadísticamente significativos en todas las pruebas. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete SPSS v.9.0(Chicago IL).

7. RESULTADOS

Las características clínicas de los sujetos estudiados se presentan en la tabla 4, y se puede observar que los pacientes cardiopatas fueron más grandes de edad que los sujetos control ($p = 0.001$), tenían concentraciones más bajas de C-HDL ($p = 0.003$), y concentraciones más elevadas tanto de triglicéridos como de lipoproteína(a) ($p = 0.001$ y $p = 0.023$ respectivamente). Otras variables evaluadas que no mostraron diferencias estadísticamente significativas, fueron el índice de masa corporal, las concentraciones de colesterol total y el colesterol-LDL.

Tabla 4: Características generales de los pacientes cardiopatas comparadas con las de sujetos sanos.

	Sujetos control n = 35	Pacientes n = 48	P
Edad †	37.71 ± 7.61	58.58 ± 8.91	0.000
IMC †	26.79 ± 3.35	25.93 ± 3.49	0.267
Colesterol Total †	190.66 ± 32.37	199.00 ± 36.58	0.285
C-HDL †	43.11 ± 10.91	36.81 ± 7.79	0.003
Triglicéridos †	136.71 ± 66.64	186.50 ± 68.93	0.001
C-LDL †	125.14 ± 34.63	132.35 ± 34.55	0.351
Apo(a) ‡	23	22	0.317
Lp(a) ‡	11.00	21.50	0.023

†Valores expresados como medias ± DE. El valor de P se obtuvo por ANOVA

‡Valor expresado como mediana. El valor de P se obtuvo por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney-U

La edad esta dada en años, IMC en kg/m², Apo(a) en No. de Kringles y los demás lípidos en mg/dl.

Como se mencionó anteriormente, tanto la edad como el IMC son factores de riesgo para enfermedades de tipo cardiovascular; por lo que se realizó un análisis en el cual se ajustaron los grupos por edad e IMC. Se incluyeron solamente 34 sujetos control y 47 cardiopatas debido a que, no se tenían los datos antropométricos de los otros dos sujetos. Aunque actualmente es bien conocido que la lipoproteína(a) es independiente tanto de la edad como del IMC, el análisis se hizo tomando en cuenta esta lipoproteína. Los resultados indican que la Lp(a) fue el único factor de riesgo que mantuvo la diferencia entre los dos grupos; incluso con valores muy similares a los del primer análisis (sujetos control 11.0 mg/dL vs. sujetos cardiopatas 21.5 mg/dL, con $p = 0.023$) tabla 5.

Tabla 5: Comparación del perfil de lípidos entre sujetos sanos y pacientes con cardiopatía isquémica, ajustados por edad e IMC.

	Sujetos Control (n = 34)	Pacientes (n = 47)	P
Colesterol Total †	201.78 ± 9.32	190.31 ± 7.25	0.436
Colesterol de LDL †	130.82 ± 9.45	127.69 ± 7.35	0.834
Colesterol de HDL †	42.37 ± 2.28	37.39 ± 1.77	0.168
Triglicéridos †	158.34 ± 17.69	170.06 ± 13.75	0.674
Lipoproteína(a) ‡	14.67	25.15	0.018

† Los datos son expresados como medias ± ES. EL valor de P se obtuvo por ANOVA.

‡ Datos expresados como medianas. El valor de P se obtuvo por Mann-Whitney-U

El valor de los lípidos es expresado en mg/dl.

Al hacer el análisis comparativo de la distribución de isoformas de la apolipoproteína(a) por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.220$) entre los pacientes cardiopatas y los sujetos control (figura 8); además, en ambos grupos también se puede apreciar de manera clara una característica de la apo(a) que es su distribución bimodal. En cuanto al tamaño promedio de la

apo(a), tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre ambos grupos ($p = 0.287$) como se aprecia en la tabla 4; por lo que de manera general y tomando en cuenta tanto la distribución como el tamaño promedio de la apolipoproteína(a), se puede decir que ésta, no está siendo determinante *per se* de la presencia del daño cardiovascular en nuestro grupo de pacientes.

Distribución de isoformas de sujetos control y pacientes cardiopatas

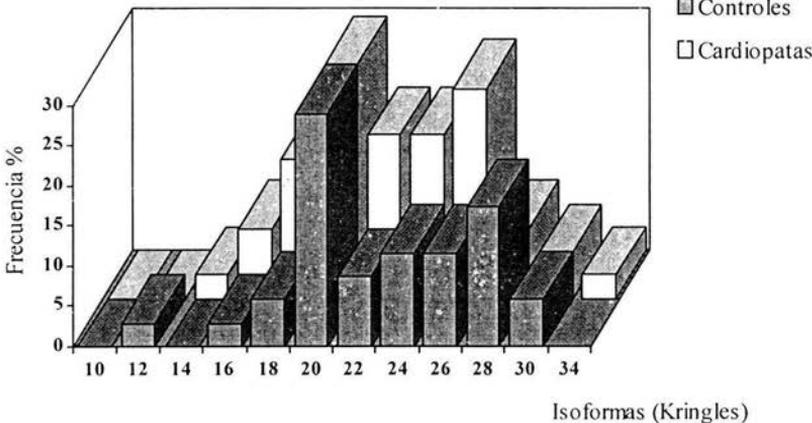


Figura 8: Comparación de la distribución de las frecuencias de isoformas de apolipoproteína(a) de pacientes cardiopatas y sujetos control ($p = 0.220$).

Una vez identificadas las isoformas de la apolipoproteína(a) tanto del grupo control como de los pacientes, el siguiente propósito del estudio fue conocer la posible asociación de esta proteína con la concentración plasmática de la Lp(a); para lo cual se hizo un análisis de correlación de los tamaños de las isoformas con la concentración plasmática de la Lp(a) de cada grupo, mediante la prueba estadística de Spearman's. Los resultados de este análisis se presentan en la figura 9. Tanto en los sujetos control como en los pacientes cardiopatas,

existió una correlación inversa con un valor de p significativo. Los datos obtenidos en este análisis sugieren que aunque el tamaño de las isoformas de la apo(a) no está directamente asociado con la presencia del daño cardiovascular, sí se encuentra directamente relacionado con las concentraciones plasmáticas de la Lp(a).

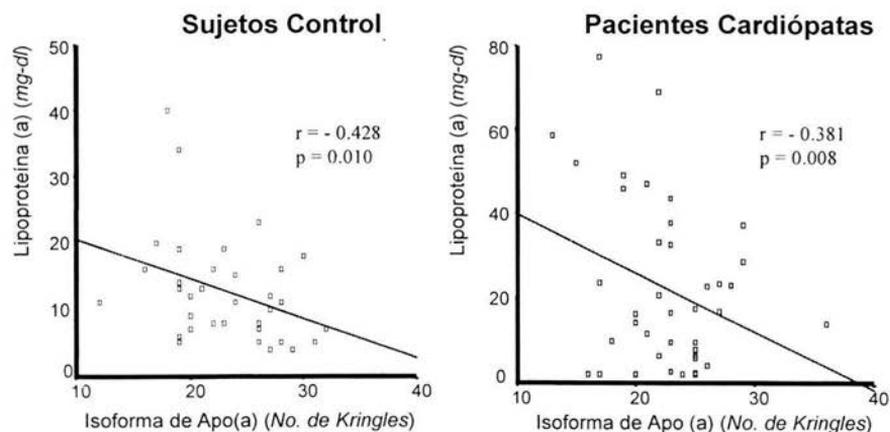


Figura 9: Asociación entre el tamaño de isoformas de apo(a) y la concentración plasmática de Lp(a) de los dos grupos estudiados.

Para poder conocer cómo la concentración plasmática de la Lp(a) podría estar involucrada con la severidad de la lesión vascular en los pacientes, se creó un índice de lesión en el cual se tomó en cuenta el daño vascular total de los sujetos. La figura 10 muestra a los pacientes cardiopatas divididos en terciles de acuerdo a la severidad del daño vascular así como las diferencias en cuanto a las concentraciones de Lp(a) entre cada uno de estos subgrupos. En la figura se aprecia de manera clara, la amplia diferencia que hay entre el tercil 2 con respecto al 1 y la pequeña diferencia entre el tercil 3 y el 1. En cuanto a la comparación entre el tercil 2 y el 3, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.856$), aun cuando en este último, los valores de la Lp(a) estuvieron por debajo de la mitad de los valores del tercil 2 (47.1 vs 23.0).

Lp(a) en pacientes cardiopatas

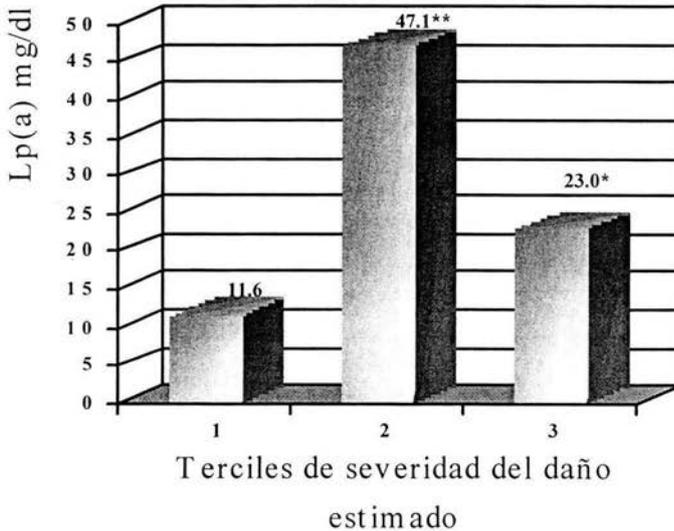


Figura 10: Comparación de las concentraciones de Lp(a) en pacientes cardiopatas estratificados en terciles de acuerdo a la severidad de la lesión cardiaca. La severidad de la lesión se estimó sumando el porcentaje de oclusión de cada vaso y el grado de isquemia; en el tercil 1 quedaron aquellos sujetos con menor lesión y en el 3 los más lesionados. * $p < 0.037$ con respecto del grupo 1. ** $p < 0.007$ con respecto del grupo 1.

Para descartar la posible influencia de otras variables confusoras en la presencia de un mayor índice de lesión vascular de los pacientes cardiopatas, se realizó un análisis controlando por los lípidos que se sabe se asocian con la enfermedad cardiovascular. Los resultados se presentan en la tabla 6 y la estrecha relación que existe entre la lipoproteína (a) y el índice de lesión arterial independientemente del resto de los lípidos, nos permite pensar en la posible asociación entre la Lp(a) y el grado de lesión vascular.

Tabla 6: Comparación del perfil de lípidos de pacientes cardiopatas con diferentes grados de lesión vascular.

	TERCILES			P*
	1 (n = 15)	2 (n = 15)	3 (n = 13)	
Colesterol total †	201.80 ± 32.87	199.73 ± 24.58	195.00 ± 50.80	0.885
Colesterol de LDL †	133.93 ± 32.12	130.80 ± 23.59	130.92 ± 48.24	0.964
Colesterol de HDL †	37.73 ± 7.79	37.87 ± 7.85	36.38 ± 7.67	0.860
Triglicéridos †	188.27 ± 101.82	194.33 ± 47.31	173.00 ± 57.28	0.737
Lipoproteína (a) ‡	11.60 ± 13.64	47.10 ± 45.30	23.00 ± 53.18	0.048

†Valores presentados como medias ± DS

‡Valores presentados como medianas ± DS

* EL valor esta dado por la comparación entre los tres grupos.

Al realizar el análisis de correlación entre la severidad de la lesión y la concentración plasmática de la lipoproteína(a), se encontró que la Lp(a) está directamente asociada con la presencia de un mayor daño vascular; ya que a mayores concentraciones de la lipoproteína, se encuentra también un mayor índice de lesión ($r = 0.348$; $p = 0.021$), figura 11. Tomando en cuenta esta asociación positiva de la Lp(a) y el índice de lesión, así como la asociación negativa entre el tamaño de isoformas de apo(a) y las concentraciones plasmáticas de la Lp(a), se realizó otro análisis de correlación entre el tamaño de isoformas y el índice de lesión vascular. Como se muestra en la figura 12, se encontró que a menor tamaño de isoformas de apo(a), mayor índice de lesión.

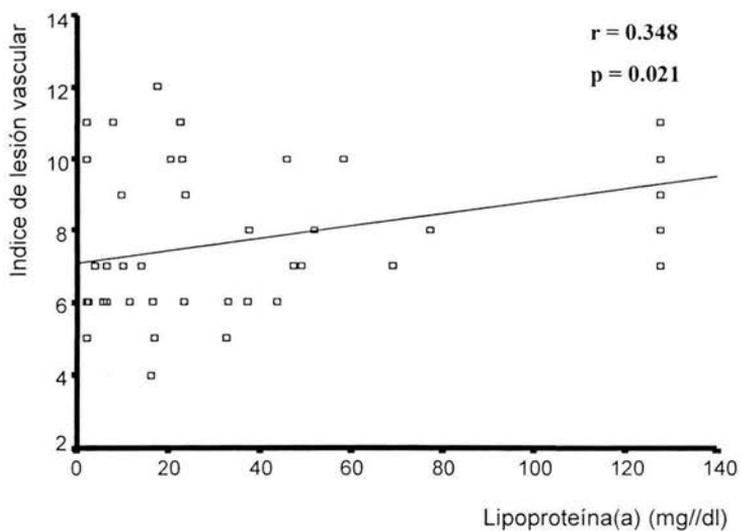


Figura 11: Asociación del grado de lesión vascular de pacientes cardíacas con la concentración plasmática de Lp(a)

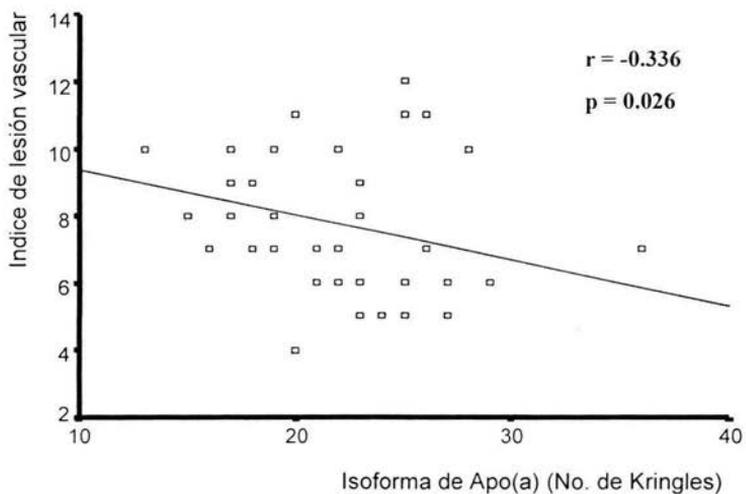


Figura 12: Asociación del índice de lesión arterial con el tamaño de isoformas de apolipoproteína(a).

8. DISCUSIONES.

El estudio de la lipoproteína(a) o Lp(a), representa un reto que une a diferentes disciplinas y que desde 1963, cuando Kare Berg²⁴ identificó su presencia en el plasma, ha planteado interrogantes que hasta la fecha, algunas de ellas no se han resuelto. Los motivos son muy diversos; uno de los principales es su compleja estructura química, que sin duda ha sido también una de las principales causas de interés. A partir de 1987, cuando Eaton McLean y col⁶³ demostraron el gran parecido estructural entre la apo(a) y el plasminógeno, se comenzaron a profundizar más los estudios con respecto a esta proteína; y como ha sido característico en la Lp(a), también comenzaron las controversias. Uno de los puntos más controversiales que se han establecido sobre la apo(a) es su asociación con la enfermedad cardiovascular; y es por eso que en el presente trabajo se estableció como primer objetivo identificar y comparar los tamaños de isoformas de la apolipoproteína(a), de sujetos sin manifestaciones clínicas de enfermedades cardiovasculares y pacientes cardíacas con lesiones aterosclerosas identificadas en tres de las principales arterias coronarias.

Como se mencionó en la introducción, las concentraciones plasmáticas de Lp(a) son determinadas principalmente por factores genéticos y están inversamente relacionadas con el tamaño de las isoformas de apo(a)^{37, 64}; sin embargo, otros factores pueden afectar sus concentraciones y crear una gran variación entre pacientes que expresan el mismo tamaño de apolipoproteína(a)⁶⁵. Pocos estudios clínicos han intentado asociar en conjunto tanto el papel del polimorfismo de la apolipoproteína(a), como las concentraciones plasmáticas de Lp(a) con la enfermedad arterial coronaria^{55, 66, 67}. Klausen et al.⁵¹, en un estudio de casos y controles demostró, que isoformas de bajo peso molecular se asocian con un incremento en el riesgo de

enfermedad arterial coronaria; sin embargo, Katsouras et al. en el 2001⁶⁷, comparando sujetos con síndromes coronarios agudos (SCA), contra sujetos con angina de pecho estable (APE), encontró que las isoformas pequeñas estaban asociadas solamente a los SCA y no a la enfermedad arterial coronaria en general. Los resultados del presente trabajo a diferencia de los antes mencionados, demuestran que el tamaño de las isoformas de la apolipoproteína(a), no se asocia directamente con la presencia de las lesiones aterosclerosas; ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (Tabla 4 y Figura 8). Estos resultados además, confirman los encontrados por Wild y colaboradores en el año de 1997⁶⁸; quien comparó pacientes con infarto al miocardio fatal y no fatal, contra sujetos control y encontró que el comportamiento de los tamaños de isoformas de apo(a) era similar en ambos grupos. Aunque actualmente es conocido que las concentraciones de la Lp(a) están inversamente asociadas con el tamaño de isoformas de la apolipoproteína(a)³⁷, es posible que algunas de las contradicciones encontradas en estudios clínicos, puedan deberse a la amplia gama de isoformas de la apolipoproteína(a)⁶⁷. Chapman et al.⁶⁹, ha mostrado que las isoformas de bajo peso molecular, tienen un mayor efecto en la "inhibición" del plasminógeno; ya que al correlacionar la afinidad de unión relativa de isoformas individuales a la fibrina, encontró que las isoformas más pequeñas tuvieron una mayor afinidad. Estos datos soportan fuertemente la hipótesis de que el número de repeticiones del K4 tipo 2 de la apolipoproteína(a), afecta directamente su grado de interacción con la plasmina y la fibrina; además de que la Lp(a) puede tener otros efectos dependientes de las isoformas en el proceso de trombogénesis⁷⁰.

En cuanto a la asociación del tamaño de isoformas de la apolipoproteína(a) con las concentraciones plasmáticas de Lp(a), los resultados encontrados en el presente estudio no difirieron de los datos previamente reportados³⁸⁻⁴⁰; ya que como se mostró en la figura 9, las

mayores concentraciones de la lipoproteína se encontraron en aquellos sujetos que tenían los tamaños de isoformas más pequeños. Uno de los estudios que mejor ha mostrado esta asociación, por el tamaño de la muestra y el tipo de diseño del trabajo, fue el realizado por Klausen et al.⁵³; que estudio sujetos de diversas universidades de cinco regiones europeas, y encontró que las isoformas de la apolipoproteína(a) correlacionaban inversamente con las concentraciones plasmáticas de la Lp(a). Brunner et al., en el año de 1996⁷¹ intento dar una explicación a estas asociaciones encontradas, y realizó un estudio en el cual cultivo una línea celular de hepatocarcinomas humanos (HepG2) y dedujo que muy probablemente esta asociación inversa esté dada por la dificultad para sintetizar partículas de apo(a) de mayor tamaño: por lo que a mayor número de repeticiones del K4-tipo 2, menor síntesis de lipoproteína y viceversa.

Por otro lado, diversos estudios han intentado correlacionar las manifestaciones clínicas de la enfermedad cardiovascular con las concentraciones plasmáticas de la Lp(a)^{56, 67, 72}; sin embargo, son pocos los investigadores que han intentado correlacionar la severidad de las lesiones de las arterias coronarias con la concentración plasmática de la lipoproteína(a) y el tamaño de las isoformas de apo(a). Brunelli et al., en 1995⁷², realizó un estudio en donde analizó el comportamiento de ambas proteínas en la lesión vascular, comparando a sujetos con síndromes coronarios agudos (angina de pecho inestable o infarto agudo al miocardio) contra sujetos con angina estable y enfermedad cardíaca no isquémica (cardiomiopatía o enfermedad valvular); los resultados obtenidos en este trabajo indicaron que los sujetos con síndromes coronarios agudos presentaban concentraciones más elevadas de Lp(a) con una $p = 0.01$; pero al estratificar al grupo de pacientes de acuerdo al grado de lesión arterial (determinado por angiografía coronaria), esta diferencia no fue tan clara ya que apenas alcanzó significado estadístico con una $p = 0.05$. Algo muy similar había sido observado por

Labeur et al. en 1992⁷³, quien además de valorar el efecto de la Lp(a) en la lesión, hizo un ajuste por otras variables lipídicas y encontró que éstas también pudieran estar explicando el mayor grado de lesión vascular. Contrario a lo encontrado por este autor, Zampoulakis et al.⁵⁶, realizó otro estudio en donde estratificó cuidadosamente a los pacientes cardiopatas, y encontró que la Lp(a) si se asoció con el número de vasos dañados pero no con el grado de lesión; además de que la Lp(a) fue el único lípido que correlacionó significativamente con el número de vasos ocluidos totalmente ($p = 0.0003$). Los resultados obtenidos en el presente trabajo, indican que los pacientes que tuvieron un índice de lesión intermedia, fueron los que presentaron las concentraciones más altas de Lp(a); y aunque los sujetos con las lesiones mayores también tuvieron concentraciones más altas de Lp(a) que los menos lesionados, el valor de p fue más significativo en el primer caso ($p = 0.007$ vs $p = 0.037$). Aunque estos datos difieren de los estudios antes mencionados, apoyan los resultados obtenidos por Budde et al. en 1994⁵⁵, quien hizo un estudio en donde estratificó por número de bazos dañados, grado de estenosis y extensión de la lesión, a 118 pacientes cardiopatas sometidos a angiografía y encontró que: a) conforme era mayor el índice de lesión, un mayor porcentaje de sujetos presentaban concentraciones elevadas de Lp(a), b) a mayor grado de lesión, menor número de sujetos; y c) la Lp(a) fue el único factor lipídico que se asoció significativamente con las tres variables de lesión. Con respecto a la asociación entre la severidad de la lesión cardiovascular con la concentración plasmática de la Lp(a) y el tamaño de isoformas de apo(a) en conjunto, no se han encontrado trabajos bibliográficos que realicen directamente este análisis; por lo que los datos presentados en las figuras 10 y 11, pudieran ser el primer informe que intenta explicar más finamente esta asociación; encontrando que tanto las concentraciones de Lp(a) directamente así como el tamaño de isoformas inversamente, afectan el desarrollo de un mayor o menor grado de lesión arterial.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos de la asociación inversa entre la concentración plasmática de Lp(a) y el tamaño de isoformas de apo(a) observados en la figura 9, es importante señalar que las diferencias de Lp(a) encontradas entre los sujetos control y los pacientes cardiopatas (tablas 4 y 5) pudieran no estar dadas por el tamaño de las isoformas de apo(a), que de hecho no son significativamente distintas entre ambos grupos; sino por algunos otros factores⁷⁴ que podrían estar incrementando la secreción de la lipoproteína(a) como respuesta a una fase aguda^{74, 75} generada por el daño al endotelio vascular coronario de los pacientes. En lo que se refiere a la asociación inversa que también se encontró entre el tamaño de isoformas y el índice de lesión vascular de los pacientes cardiopatas (figura 11); y siguiendo la misma teoría de respuesta a una fase aguda, la posible explicación a esta relación es que aquellos sujetos que tienen el genotipo para tamaños de isoformas más pequeños, tienen realmente una mayor síntesis de Lp(a) que involucra a la proteína directamente con la trombogénesis⁷⁶.

Actualmente existen evidencias de que la Lp(a) es capaz de atravesar el endotelio y acumularse en la íntima arterial; además de que la apo(a) ha sido localizada en unión con la fibrina o el fibrinógeno⁷⁷. La presencia de la apo(a) puede contribuir a la aterogénesis por promoción de la transformación de macrófagos a células espumosas⁷⁸; las cuales están involucradas en las fases tempranas de la aterosclerosis⁵. En un modelo de estenosis arterial e inducción de trombosis en arterias carótidas de monos, análisis inmuno-histoquímicos han mostrado la incorporación de Lp(a) a la capa de la adventicia, media e íntima; y altas concentraciones de Lp(a) se asociaron con la presencia de trombos arteriales oclusivos⁷⁹. Con base en lo antes mencionado, es importante señalar que el papel que juega la Lp(a) en la enfermedad cardiovascular, cobra gran interés debido a la característica que tiene de poder actuar ya sea por la vía aterogénica y/o la trombogénica.

9. CONCLUSIONES.

177

Los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran la asociación tanto de las concentraciones de la Lp(a) como de los tamaños de isoformas de la apo(a), con la presencia de un mayor índice de lesión vascular en los pacientes con cardiopatía isquémica; sin embargo, aunque la concentración de la Lp(a) está determinada parcialmente por factores genéticos, también es importante hacer notar que algunos otros factores, como la presencia de daños tisulares, pueden estar modulando la síntesis de la lipoproteína y estar influyendo en su efecto aterotrombótico.

En la actualidad, pocos estudios han estudiado en conjunto tanto el papel del polimorfismo de la apolipoproteína(a) como las concentraciones plasmáticas de Lp(a) en la severidad de las lesiones cardiovasculares. El presente estudio demostró que tanto el tamaño de isoformas de apo(a) como las concentraciones plasmáticas de Lp(a), se asocian a un mayor grado de lesión de las arterias coronarias en pacientes cardíopatas; sin embargo, la cuestión de cuándo estas proteínas pueden ser un factor causal o solo un marcador de los procesos ateroscleróticos aún queda por ser bien definida.



U.N.A.M. CAMPUS

10. BIBLIOGRAFÍA.

1. Gómez. P.F. (1999) "Avances en diabetes" Tomo 1. Ed. Corporativo Inter-medica. 1a Edición. México D.F. pag. 37-55.
2. INEGI, SSA/DGEI.1999.
3. Assmann G and Carmena R. (1990) Trastornos del metabolismo de los lípidos y cardiopatía coronaria. Prevención primaria, diagnóstico y directrices terapéuticas para la práctica clínica. Ed. Médica MMV. 1a Edición. Munich. Pág. 16-27.
4. Castro B.A., and De Teresa G. E. (2000). Programa de actualización en cardiología para el médico clínico. TOMO 2 "formas de presentación clínica de la cardiopatía isquémica". *American College of Cardiology*. España. Pag 5-7.
5. Ross R. (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*; 362: 801-809.
6. Ross R. (1999) Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*; 340: 126-155.
7. Gerald F. W. (1990) Cholesterol and Coronary Heart Disease. Ed. Merck Sharp & Dohme. 1a Edición. London UK. pag. 1-12.
8. World Health Organization. World Health Statistics Annual. Geneva: World Health Organization, 2001.
9. World Health Organization. Global Cardiovascular Infobase, 2001
10. Zenteno C.C.A. (1999). Factores de riesgo cardiovascular en adultos mexicanos de 20 a 30 años. Tesis para obtener el título de licenciada en nutrición y ciencia de los alimentos. Universidad Iberoamericana. Pag. 24-29.
11. Pi-Sunyer X. (1991). Health implications of obesity. *Am J Clin Nutr*; 53: 1595S-1603S.

12. Encuesta Nacional de Enfermeades Crónicas. (1996). 3ª. ed. México: Seretaría de Salud. 25-45.
13. Kannel W.B., Cupples L.A., and Ramaswami R. (1990). Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framinghan Study. *J Clin Epidemiol*; 44(2): 183-190.
14. Posadas R. C. (1995) Dislipidemias y aterosclerosis. Ed. Interamericana-McGraw-Hill. México. 1ª Edición pag. 281.
15. Castro B. A. and De Teresa G. E. (2000). Programa de Actualización en Cardiología para el Medico Clínico. TOMO I "Cardiopatía Isqémica". *American College of Cardiology*. España. pp: 63
16. Lerman G. I. (1998). Atención integral del paciente diabético.2ª Edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México D.F. pp: 169-177.
17. Medina U.A. (1996). Dislipidemias en individuos adultos de la ciudad de México. Tesis para obtener el titulo de Química Farmaceutica Biologa. Facultad de Química. UNAM. pag. 65.
18. Newman W.P., Freedman D.S., and Voors A.W., (1986) Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis The Bogalusa heart study. *N. Eng. J. Med*: 138-143.
19. Steinberg D., (1988) Metabolism of lipoproteins and their role in the pathogenesis of atherosclerosis en: Stokes III J., Mancini M., Atherosclerosis review, Ed. Raven Press, New York 18: pag 1-23.
20. Kannel W., Castelli W., and Gordon T (1979). Cholesterolol in the prediction of atherosclerosis disease. *Ann. Intern. Med*; 90: 85-91.
21. Schaefer J.E., Genest J.J., Ordovas M.J., Salem N.D., and Wilson W. F. (1993). Familial Lipoprotein disorders and premature coronary artery disease. *Curr. Opin. Lipidol*; 4: 288-298.

22. Ganong F.W. (1996). Fisiología médica. Ed. Manual moderno. 15ª edición de la 17ª edición en inglés. México. Pag 595-599.
23. Anglés-Cano E. (1994). Overview on fibrinolysis: plasminogen activation pathways on fibrin and cell surfaces. *Chemistry and Physics of Lipids*; 67/68: 353-362.
24. Berg K. (1963) A new serum type system in man: the Lp system. *Acta Path. Microbiol. Scand*; 59: 369-382.
25. Guevara J, Spurlino J, Jan AY, Yang CY, Tulinsky A, Prasad B VV, Gaubatz JW, and Morriset JD.(1993). Proposed mechanisms for binding of apo(a) kringle type 9 to apo B-100 in human lipoprotein(a). *Biophys J*; 64: 686-700.
26. Fless GM, Snyder ML, Furbee JWJ, Garcia-Hedo MT, Mora R. (1994). Subunit composition of lipoprotein (a) protein. *Biochemistry*; 33: 13492-13501.
27. Sommer A, Georges R, Kostner GM, Paltauf F, Hermetter A. (1991). Sulfhydryl-selective fluorescence labeling of lipoprotein (a) reveals evidence for one single disulfide linkage between apoprotein(a) and B-100. *Biochemistry*; 30: 11245-11249.
28. Sandholzer C., Hallman D. M., Saha N. (1991). Effects of the apolipoprotein (a) size polymorphism on the lipoprotein (a) concentration in 7 ethnic groups. *Hum Genet*; 86:607-614.
29. Albers J. J., Hazzard W.R. (1974). Immunochemical quantification of human plasma Lp(a) lipoprotein. *Lipids*;19:15-26.
30. Scanu A. M., Fless G. M. (1990). Lipoprotein (a) heterogeneity and biological relevance. *J Clin Invest*; 85: 1709-1715.
31. Kostner GM. The physiological role of Lp(a). In Lipoprotein(a). Ed Scanu AM. Academic Press, Inc 1990, pag 183-203.

32. Cardoso GC, Posadas C, Orvañanos OO, Peniche C, Zamora J, Aguilar R, Olguin JA, Raynaud S, Morriset JD, Guevara J Jr. (1994). Long distance runners and body-builders exhibit elevated plasma levels of lipoprotein (a). *Chem Phys Lipids*; 67-68: 207-221.
33. Tulinsky A, Park CH, Mao B, Llinás M. (1988). Lysine/fibrin binding sites of kringles modeled after the structure of kringle 1 of prothrombin. *Proteins*; 3: 85-96.
34. Sangrar W, Marcovina S. M, and Koschinsky M. L. (1994). Expression characterization of apolipoprotein(a) kringle IV types 1,2 and 10 in mammalian cells. *Protein Engineering*; 7: 723-731.
35. Binder B. R. (1995). Physiology and Pathophysiology of the Fibrinolytic System. *Fibrinolysis*; 9: 3-8
36. Hajjar K.A, Gavish D, Breslow J.L, Nachman R.L. (1989). Lipoprotein (a) modulation of endothelial cell surface fibrinolysis and its potential role in atherosclerosis. *Nature*; 339: 303-305.
37. Utermann G, Menzel H.J, Kraft G, Duba H.C, Kemmler H.G, Seitz C. (1987). Lp(a) glycoprotein phenotypes: inheritance and relation to Lp(a)-lipoprotein concentrations in plasma. *J Clin Invest*; 80: 458-465.
38. Kronenberg F, Neyer U, Lhotta K, Trenkwalder F, Avinger M, Pribasnig A, Meisl T, König P, and Dieplinger H. (1999). The low molecular weight apo(a) phenotype is an independent predictor for coronary disease in hemodialysis patients: a prospective follow up. *J. Am. Soc. Nephrol*; 10-5: 1027-1036.
39. Craig W, Poulin S, Bostom A, Eaton C, Laurino J, Ledue T, and Ritchie R. (1995). Further characterization of the plasma lipoprotein(a) distribution. *J. Clin. Lab. Anal*; 9-6: 392-6.
40. Saku K, Zhang B, Liu R, Shirai K, and Arakawa K. (1999). Associations among serum lipoprotein (a) levels, apolipoprotein(a) phenotypes, and myocardial infarction in patients with extremely low and high levels of serum lipoprotein(a). *Jpn Circ J*; 63-9: 659-65.

41. Cardoso S. G., Ize-Lema Y., Kimura Y. L., Zamora G. J., Posadas R. C. (1997). Lipoprotein (a) and cardiovascular risk in adult Mexicans. *Rev Invest Clin*; 49: 85-92.
42. Ince S. C. (1999). Lipoproteins and Atherosclerosis-The Role of HDL Cholesterol, Lp(a), and LDL Particle Size. In: 48th Annual Scientific Session. March 7 - 10, American College of Cardiology.
43. Rosengren A. Wilhelmsen L. Eriksson E. Risberg B. Wedel H. (1990). Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in a general population sample of middle aged men. *BMJ*; 301:1240-1248.
44. Dahlen G. H., Guyton G. R., Attar M., Farmer J. A., Kautz J. A., Gotto A. M. Jr. (1986). Association of levels of lipoprotein Lp(a), plasma lipids and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. *Circulation*; 74: 758-765.
45. Hoff H. F., Beck G. J., Skibinski C. I. (1988). Serum Lp(a) level as a predictor of vein graft stenosis after coronary artery bypass surgery in patients. *Circulation*; 77: 1238-1244.
46. Beisiegel U. (1991). Lipoprotein (a) in the arterial wall. *Current Opinion in Lipidology*; 2: 317-323.
47. Kuniyama M., Nakagawa K., Yoshida N., Taguchi Y., Inoue H. (2000). Lipoprotein(a) is a risk factor for occurrence of acute myocardial infarction in patients with coronary vasospasm. *J Am Coll Cardiol*; 35: 1200-1205.
48. Djurovic S., Thelle D. S., Ringstad J., Christensen B., Berg K. (1999). Altered serum concentrations of TGF-beta 1 and Lp(a) lipoprotein and their correlation in patients with first acute myocardial infarction. *Nutr Metab Cardiovasc*; 9: 250-254.
49. Saku K., Zhang B., Liu R., Shirai K., Arakawa K. (1999). Associations among serum lipoprotein (a) levels, apolipoprotein (a) phenotypes, and myocardial infarction in patients with extremely low and high levels of serum lipoprotein (a). *Jpn Circ J*; 2: 8-12.

50. Ridker M. P., Hennekens H. C., and Stampfer J. M. (1993). A prospective Study of Lipoprotein (a) and the Risk of Myocardial Infarction. *JAMA*; 270: 2195-2199.
51. Klausen C., Sjol A., Hansen S. P., Gerdes U. L., Moller L., Lemming L., Schroll M., and Faergeman O. (1997). Apolipoprotein (a) isoforms and coronary heart disease in men A nested case-control study. *Atherosclerosis*; 132: 77-84.
52. Brazier L., Tiret L., Luc G., Arveiler D., Ruidavets B. J., Evans A., Chapman J., Cambien F., and Thillet J. (1999). Sequence polymorphisms in the apolipoprotein (a) levels and myocardial infarction. The ECTIM Study. *Atherosclerosis*; 144: 323-333.
53. Klausen I. C., Beisiegel U., Menzel H. J., Rosseneu M., Nicaud Faergeman O. (1995). Apo(a) phenotypes and Lp(a) concentrations in offspring of men with and without myocardial infarction. The EARS Study. European Atherosclerosis Research Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 15: 1001-1008.
54. Zhong Y., Li J., Wang J. (1995). Apolipoprotein (a) phenotypes of patients with myocardial infarction. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih*; 75-3: 49-151.
55. Budde T., Fechttrup C., Boseberg E., Vielhauer C., Enbergs A., Schulte H., Assmann G. and Breithardt G.. (1994). Plasma Lp(a) Levels Correlate White Number, Severity, and Length-Extension of Coronary Lesions in Male Patients Undergoing Coronary Arteriography for Clinically Suspected Coronary Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*; 14:1730-1736.
56. Zampoulajis D. J., Kyriakousi A. A., Poralis A. K., Karaminas T. N., Palermos D. I., Chimonas T. E. and Cokkinos V. D. (2000). Lipoprotein(a) Is Related to the Extent of Lesions in the Coronary Vasculature and to Unstable Coronary Syndromes. *Clin Cardiol*; 23:895-900.
57. Siedel J., Heagele O. E., and Ziegenhorn J. (1983). Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem*; 29: 1075-1080.

58. Nagele U., Hagele O. E., and Sauer G. (1984). Reagent for the enzymatic determination of serum triglycerides with improved lipolytic efficiency. *Chem Clin Biochem*; 22: 164-174.
59. Warnick G. R., Bemederon J., and Albers J. J. (1992). Dextran-sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantization of high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Chem*; 28: 1379-1388.
60. DeLong D., DeLong E., Wood P., Lippel K., and Rifkind B. (1986). A comparison of methods for the estimation of plasma low-and very low-density lipoprotein cholesterol. *JAMA*; 256: 2372-2377.
61. Cazzolato G., Prakash G., Green S., and Kostner G. M. (1983). The determination of lipoprotein Lp(a) by rate and endpoint nephelometry. *Clin Chem Acta*; 153:203-208.
62. Cardoso G., Massó F., Montañó L. F., Medina A., Posadas R., Zamora J., Posadas C. Simplified method for the detection of apo(a) isoforms. Aceptado para publicación en Prep. Biochem. Biotech. En octubre del 2000.
63. Eaton D.L., Fless G.M., Kohr W.J., McLean J.W. Xu Q.T., Miller C.G. and Lawn R.M. (1987). Partial amino acid sequence of apolipoprotein(a) shows that is homologous to plasminogen. *Proc Natl Acad Sci*; 84: 3224-3228.
64. Boerwinkle E., Leffert C.C., Lin C., Lackner G., Chiesa G., and Hobbs H.H. (1992). Apolipoprotein gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentration. *J. Clin. Invest*; 90:52-60.
65. Perombelon Y.F., Soutar A.K., and Knight B.L. (1994) Variation in lipoprotein(a) concentration associated with different apolipoprotein(a) alleles. *J. Clin. Invest*; 93:1481-1492.
66. Sandholtzer C., Saha N., Kark J.D. Rees A., Jaross W. and Dieplinger H. (1992). Apo(a) isoforms predict risk for coronary heart disease. A study in six populations. *Arterioscler Thromb*; 12: 1214-1226.

67. Katsouras C.S., Karabina S.A., Tambaki A.P., Goudevenos J.A., Michalis L. K., Tsironis L.D., Stroumbis C.S., Elisaf M.S., Sideris D.A. and Tselepis A.D. (2001). Serum lipoprotein(a) concentrations and apolipoprotein(a) isoforms: association with the severity of clinical presentation in patients with coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk*; 8:311-317.
68. Wild S. H., Fortmann S.P., and Marcovina S.M. (1997). A prospective case-control study of Lipoprotein(a) levels and Apo(a) size and risk of coronary heart disease in Stanford five-city project participants. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*; 17: 239-245.
69. Chapman M.J., Huby T., Nigon F., Thillet J. (1994). Lipoprotein(a): implication in atherothrombosis. *Atherosclerosis*.110(suppl): S69-S75.
70. Peña D. A., Izaguirre A. R., and Angles C. E. (2000). Lipoprotein Lp(a) and Atherothrombotic disease. *Archives of Medical Research*; 31: 353-359.
71. Brunner C., Lobentanz E.M., Petho-Schramm A., Ernst A., Kang C., Dieplinger H., Muller H.J., and Utermann G. (1996). The number of identical kringle IV repeats in apolipoprotein(a) affects its processing and secretion by HepG2 cells. *J Biol Chem*; 271: 32403-32410.
72. Brunelli C., Spallarossa P., Bertolini S., Balbi M., Barbara C., Masturzo P., Lantieri P.B., Pastorini C., and Caponeto S. (1995). Lipoprotein(a) is increased in acute coronary syndromes (unstable angina pectoris myocardial infarction), but it is not predictive of the severity of coronary lesions. *Clin Cardiol*; 18: 526-529.
73. Labeur C., Bacquer D.D., Backer G.D., Vincke J., Muyldermans L., Vandekerckhove Y., Van der Stichele E., and Rosseneu M. (1992). Plasma lipoprotein(a) values and severity of coronary artery disease in a large population of patients undergoing coronary angiography. *Clinical Chemistry*; 38(11): 2261-2266.
74. Maeda S., Seishima M., Abe A., Makino K., Noma A. And Kawade M. (1989). Transient changes of serum lipoprotein(a) as an acute phase protein. *Atherosclerosis*; 78 (2-3): 145-150.

75. Craig W. (1992). Lipoprotein(a) and the acute phase response. *Clinica chimica Acta*; 210: 231-232.
76. Miles L.A., Fless G.M., Levin E.G., Scanu A.M., and Plow E.F. (1989). A potential basis for the thrombotic risks associated with lipoprotein(a). *Nature*; 339: 301-303.
77. Scanu A.M. (1992). Lipoprotein(a): link between structure and morphology. *Ann Epidemiol*; 2: 407-412.
- IZT.**
78. Zioncheck T.F., Powell L.M., Rice G.C. Eaton D.L., and Lawn R.M. (1991). Interaction of recombinant apolipoprotein(a) and lipoprotein(a) with macrophages. *J Clin Invest*; 87: 767-771.
79. Williams J.K., Bellinger D.A., Nichols T.C., Griggs T.R., Bumol T.F., Fouts R.L., and Clarkson T.B. (1993) Occlusive arterial trombosis in cynomolgus monkeys with varying plasma concentrations of lipoprotein(a). *Arterioscler Thromb*; 13: 548-554.

