

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”**

**ANORMALIDADES PROATEROGÉNICAS DE LAS
LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD EN MUJERES
PREMENOPÁUSICAS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.**

**TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA**

PRESENTA:

DR. PEDRO GOROCICA BUENFIL

ASESOR:

DR. CARLOS POSADAS ROMERO

DIRECTOR GENERAL DE ENSEÑANZA:

DR. JOSÉ FERNANDO GUADALAJARA BOO

MÉXICO D. F.

AGOSTO DE 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

A Pilar mi esposa
Mi fiel compañera, mi inspiración y mi fuerza

A Alejandro mi hijo
El mejor regalo de Dios

Agradecimientos:

A mis padres:

Por su ejemplo de vida, por su apoyo y su cariño

Al Dr. Carlos Posadas Romero:

Por su ayuda inmensa en la tesis, su apoyo y sus enseñanzas. Gracias Maestro.

Al Dr. Guadalajara:

Por su dedicación y amor a la enseñanza.

A mis maestros en el Instituto, especialmente a la Dra. Ávila, al Dr. M.A Martínez, al Dr. B. Mendoza, al Dr. C. Mendoza, al Dr. Santos, al Dr. Azar, al Dr. Romero, al Dr. Vallejo, al Dr. Bucio, al Dr. Baranda, al Dr. Alexanderson, a la Dra. Meave, a la Dra. Lacy y al Dr. Ortiz.

A mis maestros durante la residencia de Medicina Interna en Monterrey, especialmente a la Dra. Mortera, al Dr. Tamez, al Dr. Sony, y al Dr. De la Fuente

A mis maestros de la facultad de Medicina en Mérida, especialmente al Dr. Arcila, a al Dr. Alejos, a la Dra. Díaz y al Dr. Esquivel.

A todos mis maestros de vida, especialmente a la Sra. Loreto, a Ana María, a mi Tío Iván y a mi tía Landy

A mi Abuela Sara, por todo su cariño, por haber creído siempre en mí y hacerme sentir siempre tan especial

A mis hermanos, a Magui por su cariño, a Milton por su ejemplo de tenacidad, a Cristina por ser la mejor y a María por su ternura e inocencia

A mis amigos de vida: Rubén, Tiberio, Luis, Carlos, Ricardo, y José Luis, por su compañía, por crecer juntos, por todo...

A los amigos encontrados en este Instituto, especialmente a Luis Roberto, Héctor, Claudia, Fabián, Alonso, Carlos, Juan Carlos y Engels, gracias por todo su apoyo, su comprensión y por haber sido unos compañeros excelentes en este camino.

Finalmente, pero más importante, gracias a Dios, por haber puesto en mi camino a todas estas personas y a las que he olvidado mencionar ya que por todas ellas he logrado concluir este sueño.

INDICE

Contenido	Página
Resumen	1
Antecedentes	3
Lupus eritematoso sistémico	3
Aterosclerosis y lupus	3
Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	5
HDL y aterosclerosis	6
HDL en lupus	8
Justificación	9
Objetivos	10
Objetivo principal	10
Objetivo secundario	10
Material y métodos	11
Pacientes	11
Evaluación clínica	11
Métodos de laboratorio	11
Distribución de las subclases de HDL	12
Composición de las HDL	13
Análisis estadístico	13
Resultados	14
Tabla 1	16
Tabla 2	17
Gráfica 1	18
Gráfica 2	19
Discusión	20
Bibliografía	23

ANORMALIDADES PROATEROGÉNICAS DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD EN MUJERES PREMENOPÁUSICAS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

RESUMEN

Antecedentes: La enfermedad arterial coronaria (EAC) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Además de las concentraciones bajas del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), frecuentemente reportadas en pacientes con LES, las características estructurales de estas lipoproteínas también se han encontrado asociadas con EAC.

Objetivo: Estudiar la distribución de subclases y la composición de las HDL en mujeres jóvenes con LES sin complicaciones y en mujeres sanas de la misma edad.

Metodología: En 30 mujeres premenopáusicas con LES y 18 controles sanas, se determinaron las concentraciones de lípidos y lipoproteínas en plasma. La distribución de tamaños de HDL se analizó con el método de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), usando gradiente de 4% a 30% y condiciones no desnaturizantes. La composición química de las HDL se determinó por métodos automatizados y la proporción de apolipoproteínas por PAGE desnaturizante.

Resultados: Los valores medios de insulina y de resistencia a la insulina (HOMA-RI) fueron más altos ($p < 0.05$) en las pacientes con LES. Las concentraciones de colesterol total, colesterol de lipoproteínas de baja densidad, C-HDL y apolipoproteína AI fueron más bajas ($p < 0.05$) y las de triglicéridos ligeramente más altas ($p = N.S.$) en el grupo de pacientes. Comparadas con las controles, las pacientes con LES tuvieron proporciones significativamente más bajas de HDL_{2b} (-14.7%) y mayores de HDL_{3b} (+8.8%) y HDL_{3c} (+23.3%). En las HDL de las pacientes, las concentraciones de ésteres de colesterol (-18%) y de apolipoproteína AI (-9%) fueron más bajas, mientras que las de triglicéridos (+32%) y apolipoproteína E (+27%) fueron más altas. El análisis de regresión lineal múltiple por pasos mostró que la insulina (32.7%) y la apo AI (11.4%) explicaron de manera independiente el tamaño promedio de las partículas de HDL en todas las mujeres estudiadas.

Conclusiones: Este estudio es el primero en demostrar que la distribución y composición de las HDL en pacientes con LES se encuentran alteradas. Algunos estudios han mostrado que estas anormalidades se asocian con deterioro de las propiedades ateroprotectoras de las HDL y con mayor riesgo de EAC. Por lo tanto, el uso de fármacos que además de reducir TG y aumentar el C-HDL, modifican favorablemente la composición química y la funcionalidad de las HDL, podría ser un nuevo enfoque para mejorar el perfil lipoprotéico, reducir la inflamación, y atenuar la aterosclerosis en pacientes con LES.

ANTECEDENTES

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad inflamatoria, autoinmune crónica; en la cual órganos, tejidos y células sufren daño mediado por anticuerpos que se unen a los tejidos y complejos inmunes resultando en respuestas autoinmunes anormales. Todos los componentes claves en el sistema inmune están involucrados en los mecanismos de la enfermedad. Es causado por interacciones entre genes susceptibles y factores ambientales.^{1,2,3} Las diversas presentaciones del lupus varían desde rash y artritis, anemia y trombocitopenia, hasta serositis, nefritis, convulsiones y psicosis.

La prevalencia del lupus varía de aproximadamente 40 casos por 100,000 en europeos del norte a más de 200 por 100,000 en la raza negra. En Estados Unidos es de 15 a 50 por 100,000 personas.^{2,3} Afecta principalmente a mujeres jóvenes, una población habitualmente libre de aterosclerosis¹. A una mujer que se le diagnostica lupus a los 20 años tiene una probabilidad de 1 en 6 de morir a los 35 años de edad por lupus o infección, más tarde el infarto al miocardio y los accidentes vasculares cerebrales se vuelven causas importantes de muerte. Teniendo un patrón bimodal de mortalidad.³

El tratamiento para el lupus ha mejorado y la sobrevida a largo plazo ha aumentado. La expectativa de vida de estos pacientes ha mejorado de aproximadamente 50% en 4 años en 1950 a 80% a los 15 años actualmente.^{1,3} Sin embargo, es claro que los pacientes con lupus tienen un incremento sustancial en la morbilidad y mortalidad de origen cardiovascular.¹

ATEROSCLEROSIS Y LUPUS

La aterosclerosis acelerada y sus secuelas son reconocidas cada vez más, como las causas más frecuentes de morbilidad y mortalidad en mujeres jóvenes con LES⁴. En pacientes con esta enfermedad, no sólo la prevalencia de aterosclerosis arterial coronaria es elevada sino también, la edad de su aparición es menor.⁵

La aterosclerosis asintomática es frecuente y evidencias de autopsias y estudios clínicos han sugerido la mayor prevalencia de aterosclerosis subclínica en estos paciente ⁵. Un estudio encontró que el riesgo de eventos cardiovasculares estaba incrementado por un factor de 7 a 17 en pacientes con lupus comparados con la cohorte de Framingham.⁶

La detección temprana de la aterosclerosis, con métodos no invasivos como la angiotomografía, daría una oportunidad para la intervención terapéutica.¹ La incidencia de infarto al miocardio es 5 veces mayor en pacientes con lupus que en la población general y en mujeres jóvenes la incidencia por edad específica está incrementada por un factor de 50 ⁷. Por estas razones el LES debe agregarse a la lista de condiciones que elevan el riesgo cardiovascular independiente de los factores de riesgo convencionales. ¹

Aún hay controversia con respecto al mecanismo de la aterosclerosis prematura en pacientes con lupus. ⁵ La etiología y patogénesis de la aterosclerosis del lupus son multifactoriales, y las tasas aumentadas de enfermedad cardíaca coronaria en estos pacientes se explican solo parcialmente por el incremento de niveles en los factores tradicionales de riesgo⁸. Además se ha encontrado que no está relacionada con la actividad de la enfermedad o de la terapéutica con corticosteroides.¹

En años recientes varios estudios han reportado marcadores no tradicionales de riesgo para enfermedad aterosclerótica cardiovascular en pacientes con lupus. Las mayores prevalencias de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina ^{9,10}, la dislipidemia por hipertrigliceridemia ¹¹, el aumento en la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas ¹², con incremento en la susceptibilidad a la oxidación de las LDL ⁹, la disminución en las concentraciones de colesterol HDL, con mayores proporciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL) proinflamatorias asociados con mayores niveles de LDL oxidadas ⁵, autoanticuerpos para epítomos de LDL oxidadas, y un aumento de niveles de alfa-1-antitrypsin, de anticoagulante lúpico y de niveles de homocisteína ¹¹ son algunos de los biomarcadores de riesgo encontrados en pacientes con LES. En pacientes sin lupus estas anormalidades en insulina, LDL y HDL se ha demostrado que están asociadas con enfermedad aterosclerosa coronaria ^{10,12}.

HDL

Las lipoproteínas de alta densidad son complejos de lípidos y proteínas esenciales para el transporte de colesterol, triglicéridos y vitaminas liposolubles, sintetizados por el intestino y el hígado. Las HDL son partículas esféricas o discoides. La Apo A-I es el principal componente protéico de las lipoproteínas de alta densidad. Además, estas partículas también contienen fosfolípidos, ésteres de colesterol, colesterol libre y enzimas involucradas en el metabolismo de los lípidos, incluyendo la Lecitin/Colesterol aciltransferasa (LCAT), enzimas con propiedades antioxidativas, como el factor-acetil hidrolasa activador de plaquetas (PAFH-AH), paraoxonasa 1 (PON1) y glutathion superoxidasa (GSPx), así como otras proteínas y péptidos.¹³

Las HDL son heterogéneas en tamaño, metabolismo, densidad, composición lipídica y posiblemente en propiedades ateroprotectoras.^{14,15} Tal heterogeneidad resulta de las diferencias en el contenido relativo de apolipoproteínas y lípidos.¹³ Usando electroforesis con gel no desnaturizante, las HDL puede clasificarse por su tamaño en orden decreciente en HDL2b, HDL2a, HDL3a, HDL3b y HDL3c¹⁶.

Las HDL, tienen propiedades biológicas ateroprotectoras claves, participan en el transporte reverso del colesterol, tienen actividad antioxidante, disminuyen la inflamación en la pared arterial y pueden reducir el riesgo de trombosis.^{13,17} El transporte reverso de colesterol, considerado como el principal mecanismo de acción de las HDL, es la capacidad de estas lipoproteínas para capturar el colesterol de los tejidos, de las membranas celulares y, particularmente de los macrófagos y células espumosas para transportarlo hacia el hígado.
13,17

Mediante su actividad antioxidante, las HDL protegen a las lipoproteínas de baja densidad contra el estrés oxidativo. Las distintas subfracciones tienen una actividad antioxidativa heterogénea, ésta es mayor con el incremento en su densidad^{13,17}

A través de su actividad antiinflamatoria, las HDL disminuyen la inflamación de la pared arterial reduciendo en el endotelio la expresión de moléculas de adhesión inducida por citoquinas y el reclutamiento de monocitos. La heterogeneidad de la actividad antiinflamatoria de HDL está pobremente caracterizada. Se ha reportado que HDL3 es superior a HDL2 en términos de su capacidad de inhibir adhesión vascular celular.¹³

De los efectos antitrombóticos de HDL, se conoce que disminuye la activación y la agregación plaquetaria. Además se han reportado efectos antiapoptosis, vasodilatadores e incluso antifécciosos.¹³

HDL Y ATEROSCLEROSIS

La llamada dislipidemia aterogénica se caracteriza por un desequilibrio entre los niveles excesivos de colesterol en las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B, (VLDL, IDL Y LDL) y los niveles anormalmente bajos de lipoproteínas antiaterogénicas que contienen apo A-1.(HDL)¹³

Las personas con niveles bajos de colesterol HDL (menores de 40 mg por decilitro en hombres y menores de 50 mg por decilitro en mujeres) están en mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria y muerte por causas cardiovasculares.¹⁷ Sin embargo, el nivel de C-HDL no es el único factor de riesgo, también la deficiencia en la función de estas partículas puede resultar en aterosclerosis acelerada.^{13,17} Las propiedades ateroprotectoras de las HDL pueden estar reducidas en enfermedades metabólicas asociadas con aterosclerosis acelerada.^{13,17}

Es interesante mencionar, el hallazgo de una mayor proporción de HDL proinflamatoria en presencia de niveles normales de colesterol HDL (C-HDL)¹², lo que apoya el concepto actual de que los niveles plasmáticos de C-HDL no reflejan la concentración de partículas circulantes de HDL ni su función biológica.^{13,14}

Se conoce que las HDL sufren modificaciones dramáticas en su estructura y composición como resultado de las acciones concertadas de las respuestas de fase aguda e inflamación.

Como consecuencia, las partículas de HDL pierden de manera progresiva sus actividades biológicas normales y adquieren propiedades alteradas. A estas partículas de HDL alteradas se les ha llamado “HDL disfuncionales”.¹³ La estrecha relación entre inflamación, estrés oxidativo, dislipidemia y aterosclerosis sugiere que las alteraciones en las HDL juegan un papel importante en la progresión de la enfermedad aterosclerosa.

La alteración funcional de las HDL está íntimamente relacionada con alteraciones en su estructura. Se ha demostrado que en pacientes con C-HDL bajo, las partículas de HDL están enriquecidas en triglicéridos y depletadas de ésteres de colesterol (CE)¹⁸. Estas anomalías en HDL pueden resultar en una actividad antioxidante atenuada¹⁹, efecto antiinflamatorio reducido²¹ y una menor capacidad para promover la captación del colesterol²², el primer paso en el transporte reverso del colesterol. Se considera que esta reducción en las propiedades ateroprotectoras de HDL dan como resultado un efecto proaterogénico indirecto de estas partículas¹³

Una distribución anormal de las subclases de HDL, caracterizada por valores bajos de partículas de HDL grandes y niveles elevados de HDL pequeñas, que indican una conversión alterada de HDL pequeñas a grandes o un reemplazo acelerado y remodelación de partículas del tipo de las partículas HDL₂, se ha reportado en pacientes con estados de resistencia a la insulina, como obesidad²³, síndrome metabólico^{18,19}, y diabetes mellitus tipo 2²⁴.

Se ha demostrado que los individuos con mayor proporción de partículas pequeñas de HDL están en un mayor riesgo de eventos coronarios.²⁵ Distintos estudios apoyan lo anterior. Los hombres participantes en el estudio Framingham Offspring con enfermedad arterial coronaria mostraron niveles mayores de partículas menores que los individuos sin enfermedad coronaria. De manera similar, en el estudio VA-HIT, los pacientes con nuevos eventos cardiovasculares tuvieron niveles mayores de HDL pequeñas y niveles menores de HDL grandes que los sujetos sin eventos recurrentes. Freedman y colaboradores reportaron que los niveles menores de HDL pequeñas y la disminución de HDL de tamaño intermedio medidos por resonancia magnética nuclear, se asociaron con la gravedad de la enfermedad

arterial coronaria en pacientes admitidos para la realización de coronariografía. También Mowat demostró que las partículas pequeñas de HDL predominaban en enfermedad arterial periférica.¹³

HDL EN LUPUS

Las anormalidades en las concentraciones de insulina y de lipoproteínas en pacientes con LES son similares a las observadas en sujetos con resistencia a la insulina^{23,24}. En pacientes con lupus se han reportado valores bajos de C-HDL y proporciones altas de HDL proinflamatorias asociados con mayor susceptibilidad a la oxidación de LDL.¹²

OBJETIVO PRINCIPAL

Investigar la distribución de las subclases de HDL y su composición química en mujeres adultas premenopáusicas con LES y en mujeres control pareadas por edad.

OBJETIVO SECUNDARIO

Estudiar las asociaciones de las características de HDL con los niveles plasmáticos de insulina y de adiponectina

JUSTIFICACIÓN

Debido a que las anormalidades de la insulina y del perfil lipoprotéico en el LES se asemejan a aquellas observadas en sujetos con resistencia a la insulina^{23,24}, postulamos la hipótesis que los pacientes con LES tendrían anormalidades cualitativas en sus partículas de HDL.

Ningún estudio previo ha investigado la composición química y la distribución total de subclases de HDL en pacientes con lupus. La relación de las subclases de HDL con marcadores de inflamación y la sensibilidad a la insulina tampoco ha sido determinada en estos pacientes.

METODOLOGÍA

Pacientes

De la consulta externa del servicio de reumatología de nuestro hospital, se seleccionaron 30 mujeres premenopáusicas con LES. Todas las pacientes cumplían con los criterios del Colegio Americano de Reumatología para el diagnóstico de lupus²⁵. Como grupo control, se incluyeron 18 mujeres sanas pareadas por edad. Se excluyeron del estudio mujeres menores de 18 años, con prueba de embarazo positiva, evidencia clínica de diabetes, disfunción tiroidea, enfermedad hepática o renal, historia personal de EAC, infecciones crónicas o agudas, cáncer, y aquellas con historia personal de tabaquismo o consumo de alcohol. Todas las mujeres estudiadas firmaron un consentimiento informado para la realización de los estudios.

Evaluación clínica.

En todas las participantes se aplicó un cuestionario para obtener información sobre enfermedades previas, estado clínico actual, terapia farmacológica y se practicó un examen físico completo. Las cifras de tensión arterial se tomaron en tres ocasiones, con intervalos de 5 minutos y después de que la paciente permaneció en posición sedente por al menos 10 minutos. El promedio de las últimas dos mediciones se utilizó para el análisis estadístico. Se midieron la talla (m) y el peso (kg) y el índice de masa corporal (IMC) se calculó como kg/m^2 . En las pacientes se registró la dosis actual y acumulada de los fármacos utilizados; la actividad de LES se determinó usando la modificación del Índice de Actividad de la Enfermedad para LES en población Mexicana (MEX-SLEDAI)²². Se consideraron con lupus activo las mujeres con puntaje MEX-SLEDAI mayor de 5.

Métodos de laboratorio.

Todas las mujeres fueron estudiadas después de un ayuno nocturno (10 a 12 horas) y sin consumir bebidas alcohólicas en las 48 horas previas. Las muestras de sangre venosa se colectaron en tubos sin preservativos y en tubos con EDTA (1mg/mL). El suero y el plasma se separaron por centrifugación a 2500 rpm durante 20 minutos a 4 °C, y se dividieron en alícuotas que fueron almacenadas a -70°C. hasta su análisis. Como inhibidores de proteasas

en las muestras de plasma se utilizaron Aprotinina (100KIU/mL) y benzamidina (1mM). Las concentraciones de glucosa, colesterol total (CT), TG y C-HDL fueron determinadas en muestras de plasma fresco, utilizando métodos enzimáticos estandarizados en un autoanalizador Hitachi 902 (Boehringer Mannheim, Alemania). La precisión y la exactitud de estas determinaciones en nuestro laboratorio están bajo supervisión continua por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta GA. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo para glucosa, CT, TG y C-HDL fueron 2.1% y 1.9%, 3.9% y 5.0%, 3.6% y 5.4%, y 1.2% y 2.5%, respectivamente. El colesterol de las LDL (C-LDL) se calculó usando la fórmula descrita por De Long et al.²¹. Las concentraciones en plasma de proteína C reactiva (PCR), apolipoproteína B-100 (apo B-100) y apolipoproteína AI (apo AI), se determinaron por inmunonefelometría en un equipo automatizado BN Pro Spec Nephelometer (Dade Behring Marburg GMBH, Alemania), con coeficientes de variación intra ensayo menores al 3% en todas las determinaciones. Las concentraciones de insulina en plasma se determinaron por radioinmunoanálisis (Coat-A-count; Diagnostic Products, Los Angeles, CA) y la resistencia a la insulina se calculó utilizando el modelo de evaluación de homeostasis (homeostasis model assessment: HOMA-RI)²². La concentración de adiponectina en suero se determinó por ELISA (R & D System, Quantikine Human Adiponectin, USA) y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron menores del 10%. El valor mínimo detectable de adiponectina fue de 0.25 ng/mL.

Distribución de subclases de HDL.

Las HDL aisladas del plasma por ultracentrifugación secuencial a una densidad de 1.21 g/mL, se cargaron en un gel de poliacrilamida con gradiente del 4% al 30%, en condiciones no desnaturizantes. Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie R-250 para proteínas, y posteriormente digitalizados en un densitómetro GS-670 Bio-Rad (Hertfordshire, UK), y analizados con el programa Molecular AnalystTM/PC. Para establecer los intervalos de migración de cada gel, en cada corrida se incluyeron marcadores de alto peso molecular con diámetros conocidos (tiroglobulina, 17 nm; ferritina, 12.2 nm; catalasa, 10.4 nm; lactato deshidrogenasa, 8.2 nm; y albúmina, 7.1 nm)^{28,29}. La proporción relativa de cada subclase de HDL fue estimada, en base a los

intervalos de migración de los marcadores de alto peso molecular (curva patrón) y considerando los siguientes intervalos para las HDL: HDL_{3c} 7.21 a 7.76 nm, HDL_{3b} 7.76 a 8.17 nm, HDL_{3a} 8.17 a 8.77 nm, HDL_{2a} 8.77 a 9.71 nm, y HDL_{2b} 9.71 a 12.93 nm. El coeficiente de variación para cada subclase fue menor al 10%. El tamaño promedio de la partícula de HDL se calculó en base al tamaño promedio obtenido para cada subclase de HDL (nm), multiplicado por su proporción relativa^{26,27}. El coeficiente de variación para esta determinación fue menor del 1%.

Composición de las HDL.

El contenido de proteína total, colesterol total, colesterol libre, fosfolípidos y triglicéridos en las HDL, se determinó con métodos enzimáticos comerciales (Boehringer Mannheim, Alemania) en el autoanalizador Hitachi 902, y se expresa como proporción relativa (%). El contenido de EC se calculó multiplicando la diferencia entre colesterol total y colesterol libre en HDL, por 1.67²⁸. El contenido de apolipoproteínas (apo AI, apo AIV, apo E y apos C's) se evaluó semi cuantitativamente por electroforesis en geles de poliacrilamida bajo condiciones desnaturalizantes^{30,31}

Análisis estadístico.

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS para Windows v.9.0 (SPSS inc., Chicago IL, USA). La descripción de todas las variables clínicas y bioquímicas se expresa como media \pm desviación estándar. Las variables con distribución asimétrica se transformaron logaritmicamente para los análisis posteriores. Las diferencias entre grupos fueron analizadas por la prueba t-Student para muestras independientes. El coeficiente de correlación de Pearson se calculó para evaluar la asociación entre variables y el análisis de regresión lineal múltiple por pasos para determinar la contribución relativa de las variables estudiadas sobre el tamaño promedio de las partículas de HDL. Los valores con $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

El análisis de las características clínicas y bioquímicas (tabla 1), no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos estudiados al comparar edad, IMC y tensión arterial sistólica y diastólica. Por el contrario, el perfil de lípidos en las pacientes con LES se caracterizó por valores significativamente más bajos de CT (-13%), C-LDL (-17%), C-HDL (-19%), y apo AI (-9.2%) en plasma. No se encontraron diferencias importantes en la concentración plasmática de triglicéridos y apo B-100. Aunque la concentración de glucosa fue similar en los grupos, las pacientes se distinguieron por presentar un mayor resistencia a la insulina, con valores significativamente más altos de insulina (+105%) y HOMA-RI (+149%) que las controles. Las concentraciones de PCR en plasma se encontraron más elevadas en el grupo de pacientes, mientras que la adiponectina, a diferencia de lo informado en otros estados de resistencia a la insulina, fue similar en ambos grupos. Sin embargo, al dividir a las pacientes en dos grupos, uno con $IMC > 25$ ($IMC = 32.8 \pm 3.2$) y otro con $IMC \leq 25$ ($IMC = 21.6 \pm 2.1$), encontramos que las primeras (41%) tuvieron valores más bajos de adiponectina (8.3 ± 2.9 vs 10.9 ± 3.7 ; $p = 0.051$), y valores aún más altos de insulina (12.7 ± 9.1 vs 5.36 ± 4.0 ; $p = 0.008$) y HOMA-RI (3.2 ± 3.0 vs 1.2 ± 1.0 ; $p = 0.020$), que las pacientes con IMC normal.

El análisis de la distribución de subclases de HDL mostró que la proporción de partículas grandes de esta lipoproteína (HDL_2) fue menor (-9%), mientras que la proporción de partículas pequeñas (HDL_3) fue mayor (+10%) en el grupo de pacientes comparado con las mujeres sanas (Figura 1). Al considerar las cinco subclases de HDL identificadas por la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida, encontramos que la menor proporción de HDL grandes en las pacientes con LES estaba dada por una menor proporción de HDL_{2b} (-15%); mientras que la diferencia en HDL pequeñas era resultado de una mayor proporción de HDL_{3b} (+9%) y HDL_{3c} (+23%). La distribución con desplazamiento hacia partículas de HDL pequeñas dio como resultado un tamaño promedio de HDL significativamente menor en las pacientes con LES (9.13 ± 0.17 nm vs 9.29 ± 0.15 nm en controles; $p = 0.002$) (Figura 1).

Al analizar la composición química de las HDL, expresada como porcentaje de masa total de la lipoproteína, encontramos que, en comparación con las mujeres control, las pacientes con LES tuvieron partículas de HDL empobrecidas en EC (11.0 ± 2.2 vs 13.4 ± 2.3 ; $p = 0.002$) y enriquecidas en triglicéridos (5.8 ± 2.4 vs 4.4 ± 1.4 ; $p = 0.031$). El contenido de colesterol libre, fosfolípidos y proteína total fue similar en los dos grupos (datos no mostrados). Por otro lado, cuando se comparó el contenido de apoproteínas en HDL, se encontró que, en concordancia con las concentraciones bajas de apo AI en plasma, las HDL de las pacientes tuvieron 9.2% menos apo AI (46.2 ± 4.7 vs 50.9 ± 7.0 ; $p = 0.012$), mientras que la proporción de apo E fue mayor (5.7 ± 1.7 vs 4.8 ± 0.9 ; $p = 0.026$). No se encontraron diferencias significativas en las proporciones de apo AIV, apo AII y Apo C's entre grupos (datos no mostrados).

El análisis de correlación de Pearson entre el tamaño promedio de las HDL y las variables clínicas y bioquímicas de las pacientes con LES, mostró que el tamaño de HDL se asoció positivamente con las concentraciones de apo AI en plasma ($r = 0.388$; $p = 0.045$), y negativamente con glucosa ($r = -0.462$; $p = 0.015$), PCR ($r = -0.439$; $p = 0.022$), y HOMA-RI ($r = 0.461$; $p = 0.020$). No se encontró asociación del tratamiento farmacológico (uso y dosis de prednisona y cloroquina), actividad de la enfermedad, duración de la enfermedad, y otras variables bioquímicas, con el tamaño de HDL. La figura 2 muestra las correlaciones del tamaño de HDL con las variables estudiadas en todas las mujeres. El tamaño de HDL se asoció de manera directa con las concentraciones de C-HDL y apo AI en plasma, y de manera inversa con IMC, tensión arterial sistólica, glucosa, PCR, insulina y HOMA-RI. El análisis de regresión lineal múltiple por pasos utilizado para conocer en la población total, la contribución relativa de la edad, el IMC, la tensión arterial sistólica y diastólica, glucosa, CT, TG, C-LDL, C-HDL, apo AI, apo B-100, PCR, insulina y HOMA-RI sobre el tamaño de HDL, mostró que únicamente la insulina y las concentraciones de apo AI en plasma explicaron de manera independiente, la variación en el tamaño de las partículas de HDL ($R^2 = 0.44$) (Tabla 2).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los TG altos y los valores bajos del C-HDL son anomalías lipoprotéicas características en pacientes con resistencia a la insulina, incluyendo los enfermos con LES. La resistencia a la insulina favorece el aumento en la liberación de ácidos grasos libres (AGL) por el adiposito³². Estos AGL son captados por el hígado y utilizados en la síntesis de TG. Como consecuencia del aumento en la síntesis hepática de TG, existe mayor síntesis y secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por el hígado, lo que combinado con la menor depuración de este exceso de VLDL, por disminución en la actividad de la lipasa lipoprotéica³³, da lugar a la elevación de TG en plasma. Mediante la acción de la proteína transportadora de esteres de colesterol (CETP), una cantidad apreciable de TG en las VLDL es intercambiada por esteres de colesterol con las LDL y HDL³³. Como resultado de este intercambio, las partículas de LDL y HDL se enriquecen en TG y se depletan de EC. El enriquecimiento en TG convierte a las LDL y HDL en sustrato más favorable para la acción de la lipasa hepática, que al hidrolizar los TG da lugar a la formación de partículas más densas y pequeñas. Este modelo metabólico parece explicar bien la condición de nuestras pacientes con LES, quienes además de tener valores bajos de C-HDL, concentraciones ligeramente más altas de TG, y aumento en los valores de insulina y HOMA-RI con respecto a las controles, también tuvieron una proporción menor de partículas de HDL₂, proporción mayor de HDL₃, y composición química alterada de las HDL, con aumento en el contenido de TG y disminución de EC. Más aún, en el análisis de regresión lineal múltiple, la concentración de insulina fue la variable con mayor efecto independiente sobre la varianza del tamaño de las HDL.

Aunque es ampliamente aceptado que los valores bajos de C-HDL constituyen un factor de riesgo independiente para la aterosclerosis prematura y la EAC³⁵, evidencias recientes indican que algunos biomarcadores relacionados con las HDL parecen ser de mayor utilidad en la predicción de eventos cardiovasculares. Se ha mostrado que los sujetos con C-HDL bajo tienen concentraciones bajas de partículas de HDL grandes y valores altos de HDL pequeñas, en comparación con sujetos control normolipidémicos³⁶. Después de ajustar por factores de riesgo tradicionales, este patrón anormal de subclases de HDL se

encontró asociado a la prevalencia de EAC³⁵ y fue de mayor utilidad que el C-HDL para predecir la recurrencia de eventos coronarios en pacientes con EAC y C-HDL bajo²⁷. No se han definido los mecanismos mediante los cuales el menor tamaño de las HDL puede aumentar el riesgo de EAC. Sin embargo, se puede sugerir que esta relación está mediada por la disminución en las actividades antioxidante^{24,19} antiinflamatoria²⁰ y en la capacidad de las HDL para promover el eflujo de colesterol²¹, encontrados en pacientes con C-HDL bajo.

La atenuación de las propiedades ateroprotectoras de las HDL en enfermedades metabólicas, sugiere la posibilidad de un efecto proaterogénico indirecto de estas partículas. Por ejemplo, la menor capacidad de las HDL para promover el eflujo de colesterol, puede dar como resultado un aumento en el acúmulo de colesterol en la pared arterial por disminución del transporte reverso de colesterol. Se piensa, pero no se ha demostrado, que esta menor eficiencia del TRC explica la relación epidemiológica entre los valores bajos de C-HDL y la mayor incidencia de enfermedad cardiovascular^{38, 39}. Se ha postulado que la oxidación de lipoproteínas en la pared arterial (principalmente las LDL), y la inflamación subsecuente son elementos claves en la aterogénesis⁴⁰. La deficiencia en las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las HDL también puede favorecer la aterosclerosis acelerada. En condiciones normales, las partículas pequeñas y densas son las más activas en promover el eflujo de colesterol⁴¹, en proporcionar protección a las LDL contra la oxidación¹⁹ y en la atenuación de la inflamación⁴². Pero en sujetos con valores bajos de C-HDL, son estas HDL pequeñas las que muestran mayor alteración en la función antioxidante, lo cual está estrechamente relacionado tanto con el enriquecimiento en TG y menor contenido de EC de las HDL, como con el estrés oxidativo aumentado, y el estado inflamatorio crónico expresado por valores altos de PCR^{18, 19}. Considerando que en pacientes con LES se ha demostrado aumento de estrés oxidativo^{43,44} y que en nuestras pacientes se observaron valores bajos de C-HDL, distribución de subclases de HDL con desplazamiento hacia partículas pequeñas, menor tamaño promedio de HDL y composición química alterada de estas lipoproteínas, así como elevación de la PCR, sugerimos que en nuestras pacientes con LES, aún en ausencia de diabetes mellitus, hipertensión arterial, daño renal o algunas otras complicaciones, la funcionalidad ateroprotectora de las HDL

podiera estar disminuida y ser un factor contribuyente en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis.

La adiponectina es una citocina sintetizada en el tejido adiposo que se asocia en forma inversa con el grado de adiposidad y la resistencia a la insulina⁴⁵. Valores bajos de adiponectina se han encontrado en pacientes con obesidad, DM y EAC⁴⁶. Como grupo, nuestras pacientes con LES mostraron valores de adiponectina similares al grupo control; sin embargo, al dividir las pacientes de acuerdo al IMC, observamos que aquellas con IMC > 25 mostraron valores significativamente más altos de HOMA-RI y de insulina, así como concentraciones más bajas de adiponectina ($p = 0.051$), en comparación con las pacientes con IMC ≤ 25 . Estos datos son congruentes con lo reportado en sujetos con obesidad y resistencia a la insulina⁴⁶.

En conclusión, las pacientes premenopáusicas con LES sin complicaciones renales, hepáticas o neurológicas, presentan anormalidades tanto en la composición química de las HDL, como en la distribución de subclases de estas lipoproteínas asociadas a hiperinsulinemia. Estas alteraciones de las HDL se han encontrado relacionadas a disfunción de las HDL y a mayor riesgo cardiovascular. Por tanto, es posible que las concentraciones bajas de C-HDL y la deficiente funcionalidad de las HDL, puedan actuar de manera conjunta para acelerar la aterosclerosis en mujeres con LES. Nuestros resultados indican que, al igual que en población general, en pacientes con LES se debe promover la dieta saludable y la práctica regular del ejercicio físico, para reducir o evitar el sobrepeso y la resistencia a la insulina, y así mejorar las HDL en términos de concentración y calidad funcional⁴⁷. El uso de niacina o fibratos que son útiles no solo para reducir TG y aumentar el C-HDL, sino también para modificar favorablemente la composición química y la funcionalidad de las HDL⁴⁷, puede ser un nuevo enfoque terapéutico para mejorar el perfil lipoprotéico, reducir la inflamación, y atenuar la aterosclerosis en pacientes con anormalidades metabólicas como las observadas en LES.

Tablas

Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas de pacientes con LES y mujeres control.*

	Control (n= 18)	LES (n = 30)	P
Edad (años)	30.3 ± 8.1	31.2 ± 8.7	N.S.
IMC (Kg/m ²)	24.3 ± 4.4	26.2 ± 6.3	N.S.
TAS (mmHg)	105.3 ± 7.5	108.4 ± 15.1	N.S.
TAD (mmHg)	68.6 ± 7.1	71.7 ± 11.2	N.S.
CT (mg/dL)	167.6 ± 34.1	144.6 ± 32.4	0.027
C-LDL (mg/dL)	97.0 ± 26.9	80.2 ± 23.6	0.036
C-HDL (mg/dL)	51.8 ± 10.6	41.8 ± 12.7	0.005
Triglicéridos (mg/dL) †	116.8 ± 57.3	149.1 ± 77.3	N.S.
Apo AI (mg/dL)	158.4 ± 22.4	143.9 ± 25.1	0.045
Apo B-100 (mg/dL)	86.8 ± 23.4	85.7 ± 23.1	N.S.
PCR (mg/L) †	1.7 ± 3.0	7.3 ± 9.2	< 0.001
Adiponectina (µg/mL)	9.3 ± 2.9	10.9 ± 3.1	N.S.
Glucosa (mg/dL)	79.9 ± 6.9	85.5 ± 13.7	N.S.
Insulina (µUI/mL) †	4.3 ± 2.3	8.8 ± 7.1	0.028
HOMA-RI †	0.83 ± 0.48	2.07 ± 2.13	0.015

*Media ± DE. † Valores transformados logarítmicamente para su comparación. LES = lupus eritematoso sistémico; IMC = índice de masa corporal; TAS = tensión arterial sistólica; TAD = tensión arterial diastólica; CT = colesterol total; LDL-C = colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; HDL-C = colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; Apo = apolipoproteína; PCR = proteína C reactiva. Valores de p determinados por la prueba de t-student. N.S. = no significativo.

Tabla 2. Análisis de regresión lineal múltiple por pasos usando como variable dependiente el tamaño promedio de las HDL en la población total estudiada.*

	β	R^2 , %	p
Insulina	-0.527	32.7	<0.001
Apo AI	0.341	11.4	0.011

* El modelo incluyó las siguientes variables independientes: edad, índice de masa corporal, tensión arterial sistólica y diastólica, glucosa, colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta y baja densidad, apolipoproteínas AI y B-100, proteína C-reactiva, insulina, y HOMA-RI. β = coeficiente estandarizado; R^2 = varianza de HDL explicada por cada variable.

Figuras

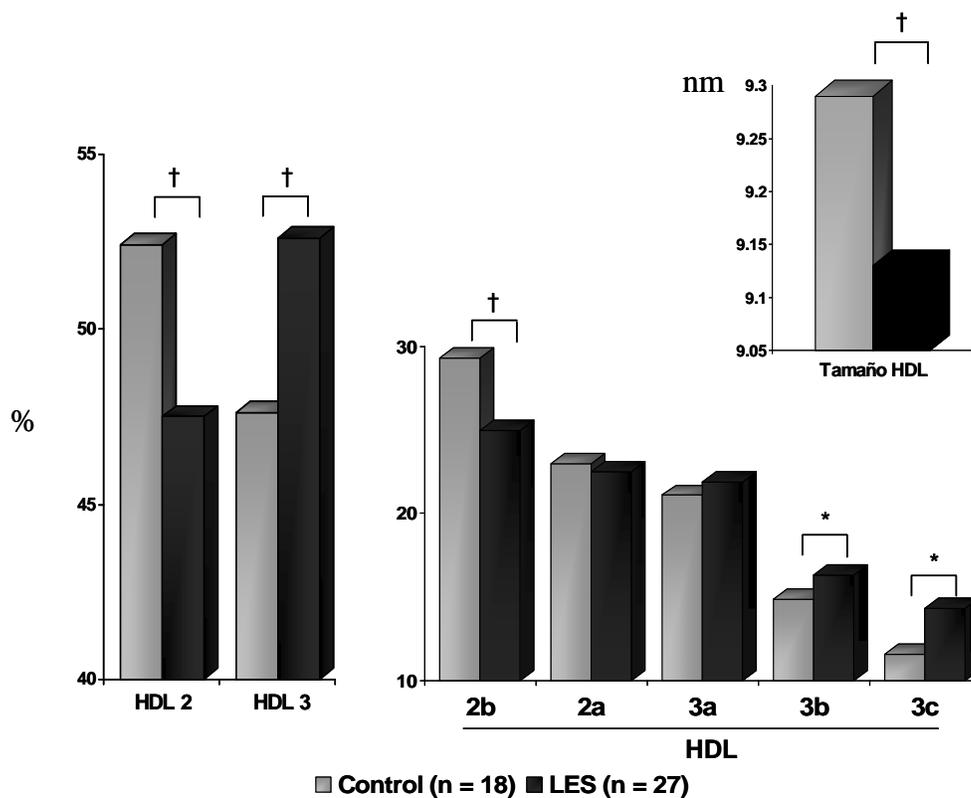


Figura 1. Valor porcentual medio de las subclases de HDL y tamaño promedio de la partícula de HDL en pacientes con LES y mujeres sanas. HDL = lipoproteínas de alta densidad; LES = lupus eritematoso sistémico. * $p < 0.05$; † $p < 0.005$; t-Student.

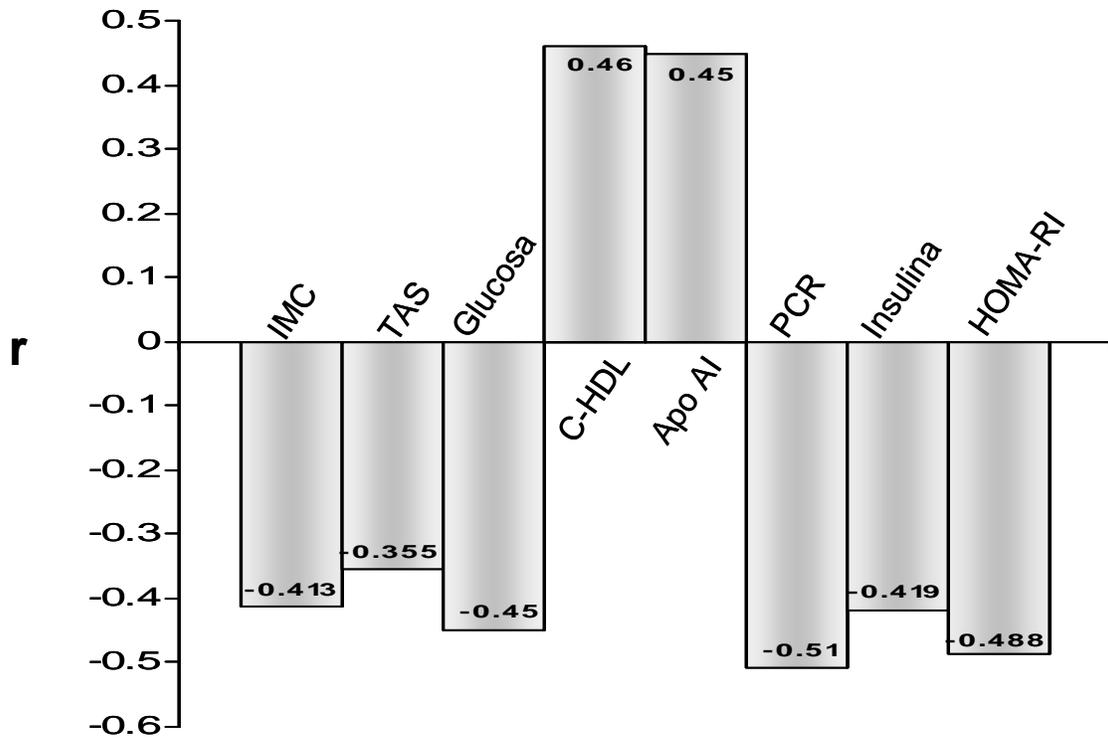


Figura 2. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre el tamaño promedio de las HDL y las características clínicas y bioquímicas, de la población total estudiada. IMC = índice de masa corporal; TAS = tensión arterial sistólica; HDL-C = colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; Apo = apolipoproteína; PCR = proteína C-reactiva.

$p < 0.05$ para todas.

BIBLIOGRAFIA

1. Asanuma Y, Oeser A, Premature Coronary-Artery Atherosclerosis in Systemic Lupus erythematosus. *The New England Journal of Medicine*, Dec18,2003
2. Hannahs H. Systemic Lupus Erythematosus. *Harrison`s Principles of Internal Medicine*, 16th edition, 2005.
3. Rahman, Isenberg, Systemic Lupus Erythematosus. Mechanisms of disease. *The New England Journal of Medicine*. February 28, 20008
4. Wajed J, Ahmad Y, Durrington PN, et al. Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus--proposed guidelines for risk factor management. *Rheumatology* 2004;4
- 5.- Roman M, Shanker B, Prevalence and Correlates of Accelerated Atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus. *The New England Journal of Medicine* 349;25 Dec 18, 20033:7-12.
- 6.- Esdaile JM, Abrahamovicz M, traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992; 93:513-9
- 7.- Manzi S, Meilahn EN, Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framningham stydy. *QJ Med* 1985, 55: 87-98
8. Jimenez S, Garcia-Criado MA, Tassies D, et al. Preclinical vascular disease in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:756-61.
- 9.Posadas-Romero C, Torres-Tamayo M, Zamora-González J, et al. High insulin levels and increased low-density lipoprotein oxidizability in pediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50:160-5.
- 10.Tso TK, Huang WN. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in patients with systemic lupus erythematosus: relation to insulin resistance. *J Rheumatol* 2007;34:726-30.
- 11- Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Risk Factors for Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus, *Circulation*. 2001;104:1887-1893.
- 12.McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:2541-9.
- 13.Borba EF, Bonfa E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997;6:533-9.

14. Barter P, Kastelein J, Nunn A, et al. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis* 2003;168:195-211.
15. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1881-8.
16. Williams PT, Krauss RM, Nichols AV, et al. Identifying the predominant peak diameter of high-density and low-density lipoproteins by electrophoresis. *J Lipid Res* 1990;31:1131-9.
17. Ashen D, Blumenthal R, Low HDL Cholesterol Levels, *The New England Journal of Medicine*, 2005; 353:1562-60
18. Hansel B, Giral P, Nobecourt E, et al. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4963-71.
19. Kontush A, de Faria EC, Chantepie S, et al. A normotriglyceridemic, low HDL-cholesterol phenotype is characterised by elevated oxidative stress and HDL particles with attenuated antioxidative activity. *Atherosclerosis* 2005;182:277-85.
20. Calabresi L, Gomaschi M, Villa B, et al. Elevated soluble cellular adhesion molecules in subjects with low HDL-cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:656-61.
21. Brites FD, Bonavita CD, De Geitere C, et al. Alterations in the main steps of reverse cholesterol transport in male patients with primary hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol levels. *Atherosclerosis* 2000;152:181-92.
22. Guzman J, Cardiel MH, Arce-Salinas A, et al. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. Prospective validation of 3 clinical indices. *J Rheumatol* 1992;19:1551-8.
23. Perez-Mendez O, Torres-Tamayo M, Posadas-Romero C, et al. Abnormal HDL subclasses distribution in overweight children with insulin resistance or type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2007;376:17-22.
24. Garvey WT, Kwon S, Zheng D, et al. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes* 2003;52:453-62.

25. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7.
26. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
27. Asztalos BF, Collins D, Cupples LA, et al. Value of high-density lipoprotein (HDL) subpopulations in predicting recurrent cardiovascular events in the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2185-91.
28. Perusse M, Pascot A, Despres JP, et al. A new method for HDL particle sizing by polyacrylamide gradient gel electrophoresis using whole plasma. *J Lipid Res* 2001;42:1331-4.
29. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, et al. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:408-19.
30. Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, et al. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res* 1981;22:339-58.
31. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, et al. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia : preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:189-97.
32. Sniderman AD, Scantlebury T, Cianflone K. Hypertriglyceridemic hyperapob: the unappreciated atherogenic dyslipoproteinemia in type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2001;135:447-59.
33. Taskinen MR. Insulin resistance and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995;6:153-60.
34. Panarotto D, Remillard P, Bouffard L, et al. Insulin resistance affects the regulation of lipoprotein lipase in the postprandial period and in an adipose tissue-specific manner. *Eur J Clin Invest* 2002;32:84-92.
35. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977;62:707-14.

36. Asztalos BF, Roheim PS, Milani RL, et al. Distribution of ApoA-I-containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2670-6.
37. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, et al. High-Density Lipoprotein Subpopulation Profile and Coronary Heart Disease Prevalence in Male Participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:2181-7.
38. Assmann G, Nofer JR. Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *Annu Rev Med* 2003;54:321-41.
39. Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res* 2004;45:993-1007.
40. Steinberg D and Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis?. *Circulation* 2002;105:2107-11.
41. Ohta T, Saku K, Takata K, et al. Different effects of subclasses of HDL containing apoA-I but not apoA-II (LpA-I) on cholesterol esterification in plasma and net cholesterol efflux from foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:956-62.
42. Ashby DT, Rye KA, Clay MA, et al. Factors influencing the ability of HDL to inhibit expression of vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1450–1455.
43. Michel P, Eggert W, Albrecht-Nebe H, et al. Increased lipid peroxidation in children with autoimmune diseases. *Acta Paediatr* 1997;86:609-12.
44. Ames PR, Alves J, Murat I, et al. Oxidative stress in systemic lupus erythematosus and allied conditions with vascular involvement. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38:529-34.
45. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 257:79–83.
46. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, et al. Osaka CAD Study Group. Coronary artery disease Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:85-9.
47. Morgan J, Carey C, Lincoff A, et al. High-density lipoprotein subfractions and risk of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:359-65