

**50° Aniversario de Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**

# Adiponectina determinaría el predominio de VLDL alteradas en el síndrome metabólico

*Adiponectin would determine the predominance of altered VLDL in metabolic syndrome*

*Adiponectina iría determinar o predominio de VLDL alteradas na síndrome metabólica*

- Diego Lucero<sup>1a,b</sup>, Verónica Miksztowicz<sup>1a,b</sup>, Leonardo Cacciagiú<sup>1a</sup>, Graciela Inés López<sup>2a</sup>, Nahuel Fernández Machulsky<sup>3a</sup>, Gabriela Berg<sup>1a,b</sup>, Valeria Zago<sup>1a,b</sup> y Laura Schreier<sup>1a</sup>

<sup>1</sup> Doctor/a de la Universidad de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Especialista en Bioquímica Clínica.

<sup>3</sup> Bioquímico.

<sup>a</sup> Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. INFIBIOC. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

<sup>b</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).



**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

## Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar si la reducción de adiponectina (ADP) en el síndrome metabólico (SMet), influencia las características aterogénicas de VLDL. Se estudiaron 45 pacientes con SMet y 15 controles sanos. En suero en ayunas se midió perfil lipídico, ácidos grasos libres (AGL), ADP, se aisló VLDL ( $\delta < 1,006$  g/L) caracterizándola en su composición química y tamaño (HPLC-exclusión molecular). En plasma post-heparínico se determinó la actividad de lipoproteína lipasa (LPL). En SMet VLDL mostró incremento de masa, número de partículas, contenido en triglicéridos-VLDL y mayor proporción de VLDL grandes ( $p < 0,05$ ). El incremento de AGL correlacionó con la masa de VLDL ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,009$ ), número de partículas-VLDL ( $r = 0,45$ ;  $p = 0,0006$ ) y %-VLDL grandes ( $r = 0,32$ ;  $p = 0,02$ ). SMet mostró descenso en ADP ( $7,4 \pm 4,8$  vs.  $15,5 \pm 7,2$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $p = 0,01$ ) y en actividad de LPL ( $p = 0,01$ ), que correlacionaron entre sí ( $r = 0,38$ ;  $p = 0,01$ ; ajustado por HOMA-IR y cintura:  $\beta = 0,35$ ;  $p = 0,02$ ). ADP correlacionó negativamente con AGL y %-VLDL grandes ( $p < 0,03$ ). Se concluye que en SMet la disminución de ADP favorecería la secreción de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño, y además retardaría el catabolismo de VLDL mediado por LPL, resultando en la acumulación de VLDL alteradas en circulación con características aterogénicas.

**Palabras clave:** síndrome metabólico \* adiponectina \* triglicéridos-VLDL \* VLDL grandes \* lipoproteína lipasa \* ácidos grasos libres

## Summary

The aim of the work was to evaluate whether the reduction of adiponectin (ADP) in metabolic syndrome (MetS) affects the atherogenic features of VLDL. A total of 45 patients with MetS (ATPIII) and 15 healthy controls were studied. In fasting serum, lipid profile, free fatty acids (FFA) and ADP

were determined. VLDL was isolated ( $d < 1.006$  g/L) and characterized in chemical composition and size (size exclusion-HPLC). In post-heparin plasma, lipoprotein lipase (LPL) activity was measured. In MetS, VLDL showed increased total mass, particle number, VLDL-triglyceride content and higher large-VLDL proportion ( $p < 0.05$ ). The increase in FFA correlated with VLDL mass ( $r = 0.36$ ;  $p = 0.009$ ), VLDL particle number ( $r = 0.45$ ;  $p = 0.0006$ ) and large-VLDL proportion ( $r = 0.32$ ;  $p = 0.02$ ). MetS patients showed a decrease in ADP ( $7.4 \pm 4.8$  vs.  $15.5 \pm 7.2$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $p = 0.01$ ) and in LPL activity ( $p = 0.01$ ), that positively correlated between them ( $r = 0.38$ ;  $p = 0.01$ ; adjusted by HOMA-IR and waist:  $\beta = 0.35$ ;  $p = 0.02$ ). ADP inversely correlated with FFA and large-VLDL% ( $p < 0.03$ ). It can be concluded that in MetS, decreased ADP would favour the secretion of triglyceride over-enriched and larger VLDL particles, and also would delay VLDL catabolism mediated by LPL, resulting in the accumulation of altered VLDL with atherogenic characteristics.

**Key words:** metabolic syndrome \* adiponectin \* VLDL-triglycerides \* large VLDL \* lipoprotein lipase \* free fatty acids

## Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar se a redução da adiponectina (ADP) na síndrome metabólica (SM), afeta as características aterogênicas das VLDL. Foram estudados 45 indivíduos com SM e 15 controles saudáveis. Em jejum, foi medido em soro o perfil lipídico, ácidos graxos livres (AGL) e ADP. Foram isoladas as VLDL ( $d < 1,006$  g / L) caracterizando-as em relação a sua composição química e tamanho (HPLC- exclusão molecular). No plasma pós-heparina foi medida a atividade da lipoproteína lipase (LPL). Em indivíduos com SM, as VLDL apresentaram aumento de massa, número de partículas, conteúdo de triglicédeos -VLDL e maior proporção de VLDL grandes ( $p < 0,05$ ). O aumento de AGL correlacionou com a massa de VLDL ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,009$ ), número de partículas -VLDL ( $r = 0,45$ ;  $p = 0,0006$ ) e percentual -VLDL grandes ( $r = 0,32$ ;  $p = 0,02$ ). A SM mostrou uma diminuição em ADP ( $7,4 \pm 4,8$  vs.  $15,5 \pm 7,2$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $p = 0,01$ ) e em atividade de LPL ( $p = 0,01$ ), que correlacionaram entre eles ( $r = 0,38$ ;  $p = 0,01$ ; ajustada por HOMA-IR e cintura:  $\beta = 0,35$ ;  $p = 0,02$ ). A ADP correlacionou em forma negativa com AGL e %-VLDL grandes ( $p < 0,03$ ). A conclusão é que em indivíduos com SM, a diminuição da ADP iria favorecer a secreção de VLDL super-enriquecidas em triglicédeos e de maior tamanho, e também atrasaria o catabolismo das VLDL mediado por LPL, resultando na acumulação de VLDL alteradas em circulação com características aterogênicas.

**Palavras chave:** síndrome metabólica \* adiponectina \* triglicédeos-VLDL \* VLDL grandes \* lipoproteína lipase \* ácidos graxos livres

## Introducción

El síndrome metabólico (SMet), de elevada prevalencia, representa un conjunto de alteraciones metabólicas que se caracterizan por elevado riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica y de diabetes tipo 2. La dislipemia aterogénica asociada al SMet consiste en aumento de triglicéridos-VLDL, disminución de colesterol-HDL y predominio de LDL pequeñas y densas (1).

Las lipoproteínas plasmáticas constituyen una familia de partículas heterogéneas, que difieren principalmente en el tamaño, la composición química y movilidad electroforética. Hoy en día se reconoce que las alteraciones en las características de composición y tamaño de las lipoproteínas les atribuyen mayor capacidad aterogénica. En este sentido, previamente estos autores han demostrado en SMet, el predominio de partículas de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño, incrementando su potencialidad aterogénica (2).

Es importante tener en cuenta que los niveles plasmáticos de VLDL son resultantes del equilibrio entre

su producción hepática y su catabolismo por parte de la enzima lipoproteína lipasa (LPL). En estados de insulino-resistencia, el mayor flujo de ácidos grasos libres al hígado provenientes del tejido adiposo estimula la síntesis hepática de triglicéridos-VLDL (3). Además, en un trabajo reciente se ha reportado una disminución en la actividad de LPL en pacientes con SMet respecto a controles sanos (4). Sin embargo, aún no está claro si en el SMet el mayor flujo de ácidos grasos y la reducción en la actividad de LPL afectan la composición y el tamaño de las partículas de VLDL.

Por otro lado, la adiponectina (ADP) es una citoquina de acción anti-inflamatoria e insulino-sensibilizante producida por el tejido adiposo y de acción sistémica, que se encuentra disminuida en situaciones de insulino-resistencia, tales como el SMet (5). Sin embargo se desconoce aún si la reducción de ADP, asociada a insulino-resistencia, modula las características de VLDL circulante.

El objetivo del trabajo fue evaluar la relación entre ADP, actividad de la enzima LPL y características de VLDL en pacientes con SMet.

## Materiales y Métodos

### PACIENTES

Un total de 45 pacientes, de ambos sexos (F=34; M=11), con diagnóstico de SMet (ATPIII) (1), fueron reclutados consecutivamente para el presente estudio, derivados del Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas", provincia de Buenos Aires. Paralelamente, se incluyeron 15 sujetos clínica y bioquímicamente sanos como grupo control, conservándose la proporción de género entre ambos grupos ( $p=0,52$ ). Al momento de la selección de pacientes y controles se tuvieron en cuenta los siguientes criterios de exclusión: presencia de diabetes *mellitus*, enfermedad renal o coronaria manifiesta, neoplasia, hipotiroidismo u otra enfermedad endocrina, o estar bajo tratamiento con hipolipemiantes, hormonas de remplazo o insulino-sensibilizantes. Aquellos sujetos que consumieran más de 20 g de alcohol/día también fueron excluidos.

Se obtuvo la firma de un consentimiento informado escrito por parte de todos los participantes para ser in-

cluidos en el estudio. El estudio tuvo la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

En todos los sujetos incluidos en el estudio, se midió circunferencia de cintura, se registró peso y altura, y se calculó el índice de masa corporal (IMC) antes de obtener la muestra sanguínea.

### MUESTRAS

Luego de 12 h de ayuno, a todos los sujetos se les extrajo sangre y se obtuvo el suero que se guardó a 4 °C para la determinación de glucosa, perfil lipídico dentro de las 48 h, o se almacenó a -70 °C para las determinaciones de insulina, ADP, ácidos grasos libres y para el aislamiento de VLDL por ultracentrifugación preparativa. Se administró heparina intravenosa (60 UI/kg de peso) para la determinación de actividad de LPL en aquellos participantes que accedieron a la prueba. Diez minutos después de la administración de heparina, se obtuvo sangre del brazo contralateral y el plasma post-heparínico (PPH) se almacenó a -70 °C hasta su utilización.

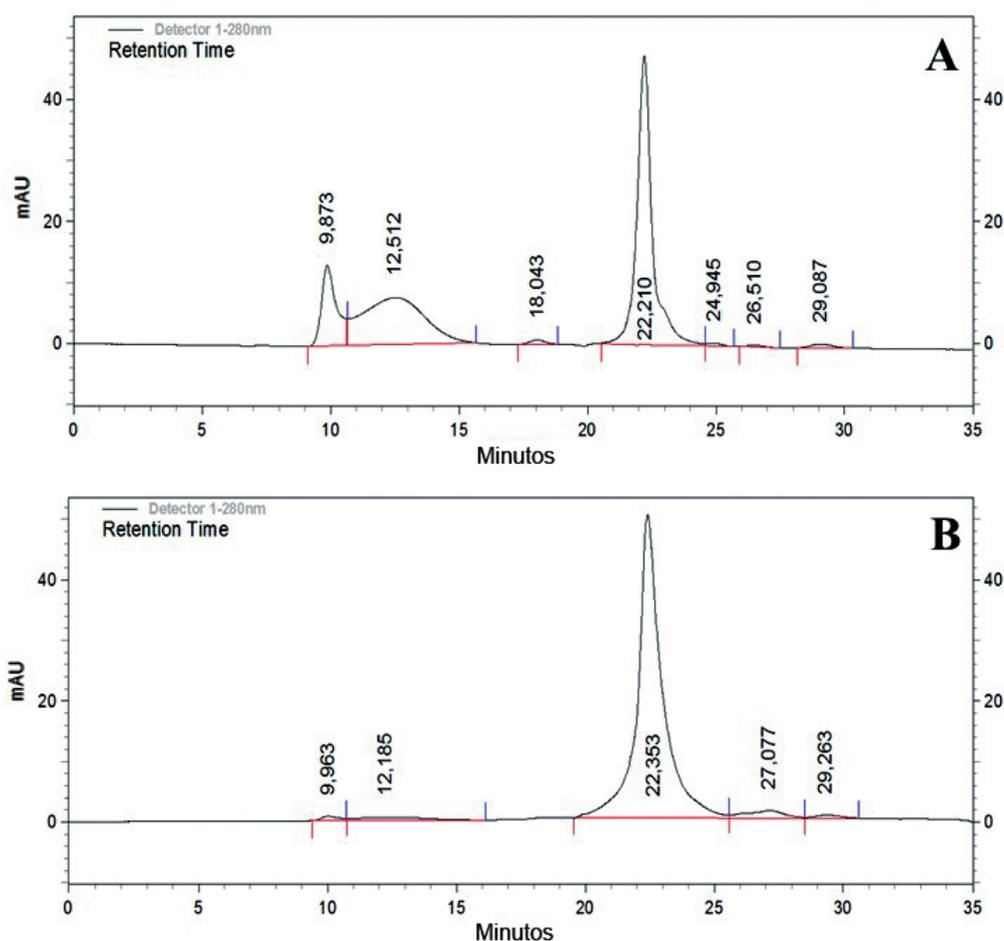


Figura 1. Cromatogramas mostrando perfiles de VLDL correspondientes a un paciente con síndrome metabólico (panel A) y a un control sano (panel B). Casos tomados al azar.

mAU: mili Unidades de Absorbancia.

### DETERMINACIONES ANALÍTICAS

En suero se midió glucosa, colesterol total y triglicéridos por métodos enzimáticos colorimétricos estandarizados y colesterol-LDL, colesterol-HDL por métodos homogéneos (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania), en autoanalizador Cobas 6000 c501. El CV intra-ensayo fue menor a 1,8%, y el CV inter-ensayo menor a 2,4%, promediando los CV% de todos los parámetros mencionados. Se determinaron ácidos grasos libres por un método enzimático colorimétrico (Randox, Reino Unido). La insulina fue medida mediante Immulite/Immulin 1000 Insulin (Siemens, EE.UU.). A fin de estimar la insulino-resistencia, se calculó el índice HOMA-IR (6).

### ANÁLISIS DE LIPOPROTEÍNAS

#### Aislamiento de VLDL

Se aisló VLDL del suero por ultracentrifugación ( $\delta < 1,006$  g/L) en una centrífuga Beckman XL-90 (California EE.UU.), usando un rotor de ángulo fijo Tipo 90 Ti. Cada corrida fue realizada a 105.000 xg, por 18 h, a 14 °C (7). La fracción aislada fue caracterizada en todos sus componentes: triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y proteínas. La sumatoria de todos los componentes en mg/dL se consideró como masa total de VLDL y, además, se calculó el porcentaje de cada uno de ellos a fin de determinar la composición química porcentual de VLDL. Asimismo, se determinó apo B-VLDL por inmunoturbidimetría (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) como indicador de número de partículas de VLDL circulante.

#### Análisis de sub-fracciones de VLDL por HPLC exclusión molecular

Una alícuota de VLDL aislada se sometió a cromatografía líquida de exclusión molecular (HPLC), utilizando un método descrito anteriormente (2). Brevemente, una alícuota de 20  $\mu$ L de fracción de VLDL aislada se inyectó en una columna TSK-Gel Lipopropack XL, 7,8 mm ID x 30 cm (Tosoh, Japan), las corridas se efectuaron utilizando como fase móvil: Tris-Acetato 0,05 mol/L (pH 8), acetato de sodio 0,3 mol/L, azida sódica 0,05% y Brij-35 0,005%. La velocidad de flujo fue 0,5 mL/min y la elución se monitoreó a 280 nm. De los cromatogramas obtenidos, en base a los tiempos de retención y mediante la implementación de una curva de calibrado con estándares de diámetro conocido, se identificaron los siguientes picos correspondientes con las sub-fracciones de VLDL: un pico a los 9,9 $\pm$ 0,1 min, correspondiente a quilomicrones remanentes (90,1 $\pm$ 0,1nm), otro pico a los 12,5 $\pm$ 0,5 min, correspondiente con VLDL grandes (60 $\pm$ 0,9 nm), otro pico a los 22,4 $\pm$ 0,1 min, correspondiente a VLDL típicas (37,3 $\pm$ 0,1 nm) y una serie de picos menores entre los 24 y 33 min, compatibles con remanentes de VLDL (35–30 nm) (8). Los

resultados se expresaron como la proporción de cada sub-fracción en relación al área total, usando el programa de integración ChromoQuest 4.1.

Se determinaron los CV% intra-ensayo para tiempo de retención y proporción de área de los picos, mediante inyecciones repetidas (n=10) de VLDL aislada de un donante, que fueron en promedio 1,2% y 5,3% respectivamente. Los CV% inter-ensayo fueron determinados a lo largo de 20 días consecutivos mediante la inyección de una muestra fraccionada y conservada a -20 °C, siendo en promedio 2,2% para los tiempos de retención y 5,9% para las proporciones de área de los picos.

### Medida de la actividad de LPL

En PPH, se midió actividad de LPL, como triglicérido hidrolasa, determinando el ácido oleico producido por la hidrólisis enzimática de una emulsión que contiene [<sup>3</sup>H]-trioleína (Amersham TRA191; Amersham, Buckinghamshire, Reino Unido), de acuerdo con el método de Nilsson-Ehle (4)(9). Brevemente, se incubó el PPH en ausencia y en presencia de 1M NaCl (inhibidor de LPL) por 30 min a 37 °C (pH 8). Luego de la incubación se extrajo el [<sup>3</sup>H]-ácido oleico y se cuantificó en Contador de Centelleo Líquido (Packard TRI-CARB 2100; Packard Instruments, Meridian, CT, EE.UU.). La actividad de LPL de cada individuo se calculó como la diferencia entre la actividad enzimática total y la actividad enzimática en presencia de 1M NaCl. Los resultados se expresaron en  $\mu$ mol ácidos grasos libres/mL PPH.h.

### DETERMINACIÓN DE ADIPONECTINA

La ADP se midió por medio de ensayo inmunoenzimático (ELISA) de fase sólida utilizando anticuerpos monoclonales en cada caso (R&D Systems, Minneapolis, EE.UU.). La concentración fue determinada con la implementación de una curva de calibrado construida con ADP recombinante estándar de concentración conocida. Los resultados se expresaron en  $\mu$ g/mL.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se presentaron como media $\pm$ DE o mediana (rango) de acuerdo con la distribución paramétrica o no paramétrica de las variables respectivamente. Las diferencias entre los grupos experimentales se establecieron utilizando el *test* de Student o *test* U de Mann-Whitney, según la distribución de los datos. Las correlaciones entre variables se determinaron utilizando los *tests* de Pearson o Spearman también dependiendo de la distribución de los datos, realizando análisis de regresión multivariados cuando se consideró oportuno con los ajustes por las variables adecuadas en cada caso. Se utilizó el programa SPSS, versión 17.0, para el procesamiento de los datos.

## Resultados

En la Tabla I se observan las características clínicas y bioquímicas de ambos grupos estudiados. Los pacientes con SMet presentaron mayor edad ( $p=0,04$ ), y como era de esperar, mostraron aumento de la circunferencia de cintura ( $p=0,001$ ), mayor IMC e índice HOMA-IR ( $p<0,001$ ). Los pacientes con SMet evidenciaron aumento de triglicéridos plasmáticos ( $p=0,001$ ) y disminución del colesterol-HDL ( $p=0,03$ ), como parte de las alteraciones características del SMet. Asimismo, los niveles de ácidos grasos libres plasmáticos se encontraron incrementados en SMet ( $p=0,038$ ).

Por su parte, la VLDL aislada de los pacientes SMet presentó mayor masa total ( $159\pm 97$  vs.  $72\pm 38$  mg/dL;  $p=0,01$ ). Además, en SMet hubo un aumento de apo B-VLDL ( $5,1\pm 2,2$  vs.  $3,8\pm 1,2$  mg/dL;  $p=0,01$ ), evidenciando un mayor número de partículas de VLDL circulantes. La mayor masa y el mayor número de partículas de VLDL se asociaron con el incremento en los niveles de ácidos grasos libres ( $r=0,36$ ;  $p=0,009$  y  $r=0,45$ ;  $p=0,0006$ , respectivamente). La Tabla II muestra la composición química de las VLDL aisladas; éstas mostraron un sobreenriquecimiento en triglicéridos en los pacientes con SMet ( $p<0,05$ ), mientras que no evidenciaron cambios en el contenido de colesterol, fosfolípidos y proteínas.

Las proporciones de sub-fracciones de VLDL detectadas por HPLC se observan en la Tabla III. Los pacientes con SMet mostraron aumento en la proporción de

las sub-fracciones correspondientes a quilomicrones remanentes y VLDL grandes ( $p<0,02$ ), y una disminución subsecuente de la proporción de VLDL típicas ( $p=0,04$ ). La proporción de VLDL grandes se asoció positivamente con los niveles de ácidos grasos libres ( $r=0,32$ ;  $p=0,021$ ).

Por su parte, la actividad de LPL fue menor en SMet [ $0,85$  ( $0,06$ – $2,10$ ) vs.  $1,45$  ( $0,56$ – $2,58$   $\mu\text{mol}$  de ácidos grasos libres/mL PPH.h;  $p=0,01$ ], evidenciando una disminución en la actividad lipolítica de lipoproteínas ricas en triglicéridos en el SMet, contribuyendo a su acumulación en plasma.

Como ya fue reportado, ADP mostró una reducción significativa en los pacientes con SMet [ $7,4\pm 4,8$  vs.  $15,5\pm 7,2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $p=0,01$ ]. De manera interesante, ADP correlacionó inversamente con la masa de VLDL ( $r=-0,37$ ;  $p=0,005$ ), apo B-VLDL ( $r=-0,51$ ;  $p=0,0001$ ) y proporción de VLDL grande ( $r=-0,32$ ;  $p=0,02$ ), estas correlaciones continuaron siendo significativas aún luego de realizar ajustes estadísticos por edad, HOMA-IR y circunferencia de cintura: ( $\beta=-0,35$ ;  $p=0,0001$ ), ( $\beta=-0,39$ ;  $p=0,001$ ) y ( $\beta=-0,28$ ;  $p=0,05$ ) respectivamente. Además, ADP mostró una correlación inversa también con ácidos grasos libres ( $r=-0,31$ ;  $p=0,028$ ).

Por otro lado, ADP correlacionó en forma directa con la actividad de LPL ( $r=0,38$ ;  $p=0,01$ ), incluso después de ajustar por edad, HOMA-IR y circunferencia de cintura ( $\beta=0,35$ ,  $p=0,02$ ), sugiriendo que a mayor concentración de ADP plasmática circulante, mayor es la actividad de LPL medida en PPH.

Tabla I. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con Síndrome Metabólico y controles sanos.

|                                      | Síndrome metabólico<br>(n=45) | Controles sanos<br>(n=15) |
|--------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Edad (años)                          | 44±12*                        | 34±13                     |
| Cintura (cm)                         | 104,8±8,0*                    | 73,5±8,7                  |
| IMC (Kg/m)                           | 34,1±5,8*                     | 22,1±1,7                  |
| Glucosa (mg/dL)                      | 103±23                        | 90±5                      |
| Insulina ( $\mu\text{U}/\text{mL}$ ) | 12,0 (3,3–66,5)*              | 5,6 (2,0–16,8)            |
| HOMA-IR                              | 3,11 (0,80–18,20)*            | 1,21 (0,43–3,98)          |
| Colesterol Total (mg/dL)             | 206±36                        | 211±33                    |
| Triglicéridos (mg/dL)                | 188±92*                       | 92±36                     |
| Colesterol-LDL (mg/dL)               | 144±37                        | 131±39                    |
| Colesterol-HDL (mg/dL)               | 41±8*                         | 58±14                     |
| Ácidos grasos libres (mM)            | 0,67±0,31*                    | 0,43±0,20                 |

Resultados expresados como Media±DE y Mediana (rango) para insulina y HOMA-IR. Test-T para variables de distribución paramétrica y Test-U Mann-Withney para variables de distribución no paramétrica. \* $p<0,05$ . IMC: Índice de masa corporal.

Tabla II. Composición química porcentual de VLDL en pacientes con Síndrome Metabólico y controles sanos.

|                   | Síndrome metabólico<br>(n=45) | Controles sanos<br>(n=15) |
|-------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Triglicéridos (%) | 56,5±6,3*                     | 51,4±7,3                  |
| Colesterol (%)    | 14,4±3,6                      | 15,2±3,5                  |
| Fosfolípidos (%)  | 14,8±3,2                      | 17,6±6,5                  |
| Proteínas (%)     | 14,5±4,5                      | 14,3±8,5                  |

Resultados expresados como Media±D.E. \* $p<0,05$  (Test-T)

Tabla III. Sub-fracciones de VLDL en pacientes con Síndrome Metabólico y controles sanos.

|                              | Síndrome metabólico<br>(n=45) | Controles sanos<br>(n=15) |
|------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| Quilomicrones remanentes (%) | 13,9 (1,6–43,6)*              | 4,9 (0,4–23,9)            |
| VLDL grande (%)              | 33,5 (1,2–72,9)*              | 7,8 (1,0–21,9)            |
| VLDL típica (%)              | 64,4 (16,5–97,0)*             | 91,0 (72,7–98,6)          |
| VLDL remanente (%)           | 1,3 (0,0–2,3)                 | 1,7 (0,0–2,6)             |

Resultados expresados como Mediana (rango). \* $p < 0,05$  (Test-U Mann-Withney).

## Discusión y Conclusiones

En el presente trabajo se evaluó si la reducción de ADP influencia las alteraciones en la composición química y estructura de la VLDL circulante en pacientes con diagnóstico de SMet y controles sanos, estableciendo, además, su relación con la actividad de LPL, principal enzima catalítica de VLDL. La reducción de ADP en el SMet se asoció con la producción de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño, y con baja actividad de LPL, contribuyendo a la acumulación de VLDL alteradas.

El tamaño y la composición química de las lipoproteínas constituyen las características que determinan su heterogeneidad relacionada con la aterogenicidad (10). En el presente estudio, los pacientes con SMet mostraron no sólo mayor número de partículas de VLDL sino que también presentaron mayor contenido en triglicéridos, como respuesta a una mayor sobreproducción hepática compatible con los estados de insulino-resistencia (11). A su vez, el estudio por HPLC de exclusión molecular demostró mayor proporción de partículas de VLDL con mayor tamaño. Otros autores, mediante estudios cinéticos *in vivo*, también demostraron que en el SMet existe una sobre-secreción de VLDL con mayor contenido de triglicéridos y estimativamente de mayor tamaño, denominada VLDL<sub>1</sub> (12).

La adiponectina, además de sus propiedades anti-inflamatorias e insulino-sensibilizantes posee un rol importante en la regulación del metabolismo lipídico hepático y del tejido adiposo (13)(14). En este trabajo, en concordancia con otros reportes, los niveles de ADP se encontraron disminuidos en SMet. Resultan interesantes, entonces, las asociaciones negativas encontradas entre ADP con la masa total de VLDL, con el número de partículas de VLDL y con la proporción de VLDL grandes.

Por otro lado, se observó que a menores niveles de ADP, mayores fueron los niveles de ácidos grasos libres. Diferentes reportes sugieren que en el SMet, el flujo incrementado de ácidos grasos libres provenientes del tejido adiposo visceral, estimularía la síntesis hepática de triglicéridos, de apo B y por ende, el ensamblaje conformando la VLDL (15). Este concepto se refuerza en el presente estudio con la asociación positiva y significativa entre el aumento en los niveles de ácidos grasos libres y la mayor proporción de VLDL de mayor tamaño, su-

giriendo que el flujo de ácidos grasos libres favorece la producción de las VLDL grandes. Es sabido que este tipo de VLDL son producidas en pacientes con diabetes tipo 2 (16). Si bien los pacientes insulino-resistentes incluidos en el presente estudio no presentaron diabetes, igualmente se evidenció el predominio de este tipo de VLDL alterada.

Cabe destacar que si bien durante mucho tiempo se dudó sobre la aterogenicidad de VLDL grandes, en estudios realizados en este laboratorio se ha demostrado que VLDL con mayor contenido en triglicéridos, y estimativamente de mayor tamaño, son un mejor sustrato para la enzima LPL (17), determinando que este tipo de VLDL sea eficientemente lipolizada, conduciendo a la formación de partículas de menor tamaño con capacidad de atravesar al subendotelio y ser retenidas por macrófagos de la íntima arterial. De hecho, otros autores demostraron que componentes de VLDL grandes se encontraron incorporados en los macrófagos del subendotelio (18). Más recientemente estos autores han demostrado que VLDL con mayor contenido en triglicéridos y mayor tamaño provocan disfunción endotelial, siendo parte del mecanismo aterogénico (19).

Por otro lado, el principal camino catabólico de las VLDL circulantes está determinado por la acción triglicérido hidrolasa de la enzima LPL. En el presente trabajo, se observó una disminución en la actividad de LPL en pacientes con SMet. Si bien la actividad de LPL en los estados de insulino-resistencia es controvertida, otros autores han reportado una disminución en la masa circulante de LPL en pacientes con SMet respecto a controles (20). Es de destacar también que la reducción de ADP se asoció con la disminución en la actividad de LPL. Por lo que se sabe, esta asociación no ha sido descripta hasta el momento. Éstos resultados sugieren que en el SMet ocurriría un enlentecimiento en el catabolismo de VLDL vía LPL.

El presente trabajo propone que la ADP tendría acciones sobre VLDL en el SMet, las cuales serían resultantes de su influencia tanto en la síntesis como en el catabolismo de esta lipoproteína. Profundizar con estudios moleculares contribuiría a ratificar estas inferencias.

Finalmente, en el contexto de la insulino-resistencia, la disminución de ADP favorecería, por un lado, la síntesis y secreción hepática de VLDL con mayor contenido en triglicéridos y de mayor tamaño –me-

diado en gran parte por el mayor flujo de ácidos grasos al hígado— y por otro, retardaría el catabolismo de estas VLDL a cargo de la LPL. De esta manera, la disminución de ADP promovería la acumulación de VLDL alteradas, como parte de un cuadro asociado a mayor número de LDL pequeñas y densas y de partículas de HDL alteradas, constituyendo a la dislipemia aterogénica del SMet.

#### CONFLICTOS DE INTERÉS

No hay conflictos de interés por declarar.

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado con fondos de la Universidad de Buenos Aires (B093).

Los autores agradecen al Dr. Eduardo Fassio y a su grupo de colaboradores, del Servicio de Gastroenterología del Hospital Nacional "Prof. Dr. Alejandro Posadas", por la derivación de pacientes con síndrome metabólico.

#### CORRESPONDENCIA

Dr. DIEGO LUCERO

Departamento de Bioquímica Clínica  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
INFIBIOC. Universidad de Buenos Aires  
Junín 956

(1113) CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES - Argentina  
E-mail: diego.martin.lucero@gmail.com

## Referencias bibliográficas

1. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120(16): 1640-5.
2. Lucero D, Zago V, López GH, Cacciagiú L, López GI, Wikinski R, *et al.* Predominance of large VLDL particles in metabolic syndrome, detected by size exclusion liquid chromatography. *Clin Biochem* 2012; 45(4-5): 293-7.
3. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2005; 115(5): 1343-51.
4. Miksztowicz V, Schreier L, McCoy M, Lucero D, Fassio E, Billheimer J, *et al.* Role of SN1 lipases on plasma lipids in metabolic syndrome and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34(3): 669-75.
5. Hirose H, Yamamoto Y, Seino-Yoshihara Y, Kawabe H, Saito I. Serum high-molecular-weight adiponectin as a marker for the evaluation and care of subjects with metabolic syndrome and related disorders. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17(12): 1201-11.
6. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28(7): 412-9.
7. Schumaker VN, Puppione DL: Sequential flotation ultracentrifugation. *Methods Enzymol* 1986; 128: 155-70.
8. Okazaki M, Usui S, Hosaki S. Analysis of plasma lipoproteins by gel permeation chromatography. En: Rifai N, Warnick G.R, Dominiczak, editors. *Handbook of Lipoprotein Testing*. 2<sup>nd</sup> edition, Washington DC: AACC Press; p. 2000: 647-69.
9. Nilsson-Ehle P, Ekman R. Rapid, simple and specific assay for lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Artery* 1977; 3: F194-209.
10. Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ, Schwertfeger G, *et al.* Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J Lipid Res* 2000; 41(2): 305-18.
11. Gill JM, Brown JC, Bedford D, Wright DM, Cooney J, Hughes DA, *et al.* Hepatic production of VLDL1 but not VLDL2 is related to insulin resistance in normoglycaemic middle-aged subjects. *Atherosclerosis* 2004; 176(1): 49-56.
12. Adiels M, Olofsson SO, Taskinen MR, Borén J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(7): 1225-36.
13. Chan DC, Watts GF, Ng TW, Uchida Y, Sakai N, Yamashita S, *et al.* Adiponectin and other adipocytokines as predictors of markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chem* 2005; 51(3): 578-85.
14. Tao C, Sifuentes A, Holland WL. Regulation of glucose and lipid homeostasis by adiponectin: effects on hepatocytes, pancreatic  $\beta$  cells and adipocytes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2014; 28(1): 43-58.
15. Fisher E, Lake E, McLeod RS. Apolipoprotein B100 quality control and the regulation of hepatic very low density lipoprotein secretion. *J Biomed Res* 2014; 28(3): 178-93.
16. Adiels M, Borén J, Caslake MJ, Stewart P, Soro A, Westerbacka J, *et al.* Overproduction of VLDL1 driven by hyperglycemia is a dominant feature of diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(8): 1697-703.
17. Schreier L, Berg G, Zago V, Gonzalez AI, Wikinski R. Kinetics of in vitro lipolysis of human very low-density lipoprotein by lipoprotein lipase. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002; 12: 13-8.
18. Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and heart disease, still a hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(8): 1716-25.
19. Zago V, Gorzalczy S, Lucero D, Taira C, Schreier L. Role of HDL in neutralizing the VLDL effect on endothelial dysfunction. *Microvasc Res* 2013; 89: 153-8.
20. Saiki A, Oyama T, Endo K, Ebisuno M, Ohira M, Koide N, *et al.* Preheparin serum lipoprotein lipase mass might be a biomarker of metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 76(1): 93-101.

Recibido: 5 de abril de 2016

Aceptado: 29 de julio de 2016