

Influencia de la adiponectina sobre la acumulación de VLDL alteradas en la dislipidemia aterogénica

Laura Schreier*[†], Diego Lucero*^{†‡}, Verónica Miksztowicz*^{†‡}, Carolina Olano*[†], Michelle Bursztyn*[†], Graciela I. López*[†], Gabriela Berg*^{†‡}, Valeria Zago*^{†‡}

*Facultad de Farmacia y Bioquímica. Dpto. de Bioquímica Clínica. Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis. [†]Inst. de Fisiopatología y Bioquímica Clínica. Buenos Aires, Argentina. [‡]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Introducción y objetivos: La dislipidemia aterogénica asociada al síndrome metabólico (SM) consiste en aumento de triglicéridos-lipoproteínas de muy baja densidad (*very low-density lipoprotein*, VLDL), disminución de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (*high-density lipoprotein*, HDL) y predominio de lipoproteínas de baja densidad (*low-density lipoprotein*, LDL) pequeñas y densas. La heterogeneidad de subfracciones de VLDL ha demostrado variable capacidad aterogénica. El objetivo del trabajo fue evaluar la relación entre adiponectina (ADP) y características de VLDL en un estado de insulinoresistencia.

Métodos: Se estudió a 45 pacientes con SM y 15 controles sanos. En suero en ayunas se midió el perfil lipídico y ADP, y se aisló VLDL ($\delta < 1.006$ g/l) caracterizándola en su composición química y tamaño (HPLC [cromatografía líquida de exclusión molecular; high-performance liquid chromatography]). En plasma post-heparínico se determinó la actividad de la lipoproteína lipasa (lipoprotein lipase, LPL).

Resultados: En el SM VLDL mostró incremento de masa, número de partículas, contenido en triglicéridos-VLDL y mayor proporción de VLDL grandes ($p < 0.05$). SM mostró descenso en ADP (7.4 ± 4.8 versus 15.5 ± 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 (homeostasis model assessment-estimated insulin resistance) y circunferencia de cintura: $\beta = 0.35$; $p = 0.02$). ADP correlacionó inversamente con la masa de VLDL ($r = -0.37$; $p = 0.005$), con apolipoproteína B (apoB)-VLDL ($r = -0.51$; $p = 0.0001$) y la proporción de VLDL grandes ($r = -0.32$; $p = 0.02$); aún luego del ajuste por 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.

Conclusión: En insulinoresistencia la disminución de ADP favorecería la síntesis y secreción de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño y, además, retardaría el catabolismo de VLDL mediado por LPL. ADP promovería la acumulación de VLDL alteradas contribuyendo al estado aterogénico del SM.

PALABRAS CLAVE: Síndrome metabólico, adiponectina, triglicéridos-VLDL, VLDL grandes, lipoproteína lipasa, riesgo aterogénico.

INTRODUCCIÓN

Uno de los componentes del síndrome metabólico (SM) es la dislipidemia aterogénica, que contribuye notoriamente al incremento del riesgo cardiovascular. Esta dislipidemia está caracterizada por aumento de triglicéridos-lipoproteínas de muy baja densidad (*very low-density lipoprotein*, VLDL), disminución de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (*high-density lipoprotein*, HDL) y predominio de lipoproteínas de baja densidad (*low-density lipoprotein*, LDL) pequeñas y densas¹.

Las lipoproteínas plasmáticas constituyen una familia de partículas heterogéneas, que difieren principalmente en el tamaño, la composición química y movilidad electroforética. Es bien reconocido que alteraciones en las características de composición y tamaño de las lipoproteínas se asociarían con una mayor capacidad aterogénica. En este sentido, previamente hemos demostrado en SM el predominio de partículas de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño, las que presentarían mayor potencialidad aterogénica^{2,3}. La producción de este tipo de partículas en los estados de insulinoresistencia dependería, en parte, del mayor flujo de ácidos grasos libres al hígado provenientes del tejido adiposo que estimula su síntesis hepática² y de una disminución de su catabolismo por parte de la enzima lipoproteína lipasa (*lipoprotein*

Recibido en marzo de 2017 - Aceptado en marzo de 2017
Conflictos de interés: ninguno

Correspondencia
Email: doctoracuartas@gmail.com

lipase, LPL)⁴. Sin embargo, aún no está claro si en el SM 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 antiinflamatoria e insulinosensibilizante producida por el tejido adiposo y de acción sistémica, que se encuentra disminuida en situaciones de insulinoresistencia, tales como el SM⁵. Sin embargo, se desconoce aún si la reducción de ADP asociada a insulinoresistencia modula las características de VLDL circulantes.

El objetivo del trabajo fue evaluar la relación entre ADP y características de VLDL en un estado de insulinoresistencia.

MÉTODOS

Se estudió a 45 pacientes con SM (ATPIII)¹ y 15 controles sanos que otorgaron su consentimiento informado. Se conservó la proporción de género entre ambos grupos ($p=0.37$). Al momento de la selección de pacientes y controles se tuvieron en consideración 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 fármacos hipolipemiantes, hormonas de reemplazo o insulinosensibilizantes. Aquellos sujetos que consumieran más de 20 g de alcohol/día también fueron excluidos. 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.

Luego de 12 horas de ayuno, se les extrajo sangre y en suero se determinaron perfil lipídico-lipoproteico, glucosa e insulina por métodos estandarizados, se calculó el índice HOMA-IR y se determinó ADP total por ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Se aisló VLDL del suero por ultracentrifugación ($\delta < 1.006$ g/l); la fracción aislada fue caracterizada en todos sus componentes: triglicéridos, colesterol, fosfolípidos y proteínas, calculándose el porcentaje de cada uno de ellos. A la sumatoria de todos los componentes en mg/dl se la consideró como masa total de VLDL. Asimismo, se determinó apolipoproteína B (apoB)-VLDL por inmunturbidimetría como indicador de número de partículas de VLDL circulantes.

Una alícuota de VLDL aislada se sometió a cromatografía líquida de exclusión molecular (*high-performance liquid chromatography*, HPLC), utilizando un método descrito anteriormente³. Se determinó el perfil de subfracciones expresado en porcentaje de quilomicrones remanentes, VLDL grandes, VLDL típicas y remanentes de VLDL. También se midió actividad de LPL, como triglicérido hidrolasa, en plasma post-heparínico obtenido 10 minutos posteriores a la inyección de heparina (60 U/kg)⁴.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se presentaron como media \pm DE (desvío estándar) 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. Se utilizó el programa SPSS, versión 17.0, para el procesamiento de los datos.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan las características clínicas y bioquímicas de ambos grupos estudiados. Los pacientes con SM presentaron mayor edad ($p=0.04$) y, como era de esperar, mostraron aumento de la circunferencia de cintura y de triglicéridos plasmáticos y disminución del colesterol HDL ($p < 0.03$), como parte de las alteraciones características del SM.

Por su parte, la VLDL aislada de los pacientes con SM presentó mayor masa total (159 ± 97 versus 72 ± 38 mg/dl; $p=0.01$) y sobre-enriquecimiento en triglicéridos (56.6 ± 6.3 versus $51.4 \pm 7.2\%$; $p < 0.05$), mientras que no mostró cambios en el contenido de colesterol, fosfolípidos y proteínas. Sin embargo, en SM hubo un aumento de apoB-VLDL (5.1 ± 2.2 versus 3.8 ± 1.2 mg/dl; $p=0.01$), evidenciando un mayor número de partículas de VLDL.

Las proporciones de subfracciones de VLDL detectadas por HPLC se observan en la Tabla 2. Los pacientes con SM mostraron aumento en la proporción de quilomicrones remanentes y de VLDL grandes ($p < 0.02$), con disminución en la proporción de VLDL típicas ($p=0.04$).

Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con síndrome metabólico y controles sanos

	Síndrome metabólico (n=45)	Controles sanos (n=15)
Edad (años)	44±12*	34±13
Cintura (cm)	104.8±8.0*	73.5±8.7
IMC (kg/m ²)	34.1±5.8*	22.1±1.7
Glucosa (mg/dl)	103±23	90±5
Insulina (μU/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

Resultados expresados como media±DE (desvío estándar) y mediana (rango) para insulina y HOMA-IR. Test-T para variables de distribución paramétrica y Test-U Mann-Whitney para variables de distribución no paramétrica. *p<0.05. Referencias: HDL, lipoproteínas de alta densidad (*high-density lipoprotein*); HOMA-IR, índice de resistencia a la insulina (*homeostasis model assessment-estimated insulin resistance*); IMC, índice de masa corporal; LDL, lipoproteínas de baja densidad (*low-density lipoprotein*).

Tabla 2. Subfracciones de VLDL en pacientes con síndrome metabólico y controles sanos

	Síndrome metabólico (n=45)	Controles sanos (n=15)
Quilomicrones remanentes (%)	13.9 (1.6-43.6)*	4.9 (0.4-23.9)
VLDL grandes (%)	33.5 (1.2-72.9)*	7.8 (1.0-21.9)
VLDL típicas (%)	64.4 (16.5-97.0)*	91.0 (72.7-98.6)
VLDL remanentes (%)	1.3 (0.0-2.3)	1.7 (0.0-2.6)

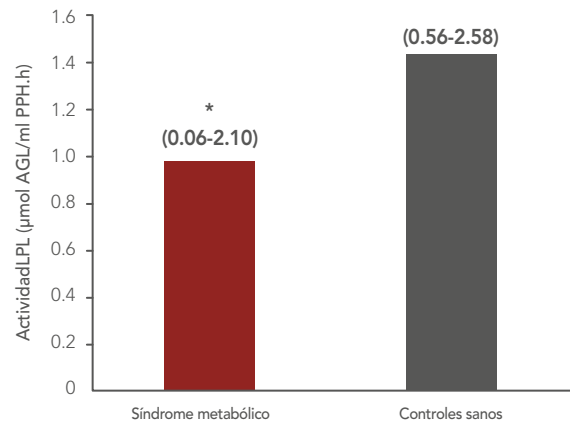
Resultados expresados como mediana (rango). *p<0.05 (Test-U Mann-Whitney). Referencias: VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad (*very low-density lipoprotein*).

La actividad de LPL fue menor en SM ($p=0.01$), sugiriendo una disminución en la actividad lipolítica sobre lipoproteínas ricas en triglicéridos en el SM (Ver Figura 1).

De acuerdo con lo esperado, ADP mostró una reducción significativa en los pacientes con SM (7.4 ± 4.8 versus 15.5 ± 7.2 μg/ml; $p=0.01$). De manera interesante, ADP correlacionó inversamente con la masa de VLDL ($r=-0.37$; $p=0.005$), con apoB-VLDL ($r=-0.51$; $p=0.0001$) y la proporción de VLDL grandes ($r=-0.32$; $p=0.02$). Estas correlaciones continuaron siendo significativas luego de efectuar ajustes estadísticos por 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.

Por otro lado, ADP correlacionó de forma directa con la actividad de LPL ($r=0.38$; $p=0.01$), incluso después de ajustar por 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 plasma post-heparínico.

Figura 1. Actividad de lipoproteína lipasa (LPL) en pacientes con síndrome metabólico y controles sanos



*Resultados expresados como mediana (rango). $p=0.001$ (Test-U Mann-Whitney). Referencias: AGL, ácidos grasos libres; LPL, lipoproteína lipasa (*lipoprotein lipase*); PPH, plasma post-heparínico.

DISCUSIÓN/CONCLUSIÓN

En el presente trabajo evaluamos la influencia de los bajos niveles de ADP, característicos del SM, sobre las características de VLDL circulantes, estableciendo -además- la relación entre el descenso de ADP y la actividad de LPL, principal enzima catalítica de VLDL.

El tamaño y la composición química de las lipoproteínas constituyen las características que determinan su heterogeneidad relacionada con la aterogenicidad⁶. En el presente estudio, los pacientes con SM mostraron un mayor número de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos, que correlacionó con una mayor proporción de partículas de VLDL de mayor tamaño. Esto concuerda con lo reportado por otros autores que, mediante estudios cinéticos *in vivo*, demostraron que en el SM existe una sobre-secreción de VLDL de mayor contenido en triglicéridos y estimativamente de mayor tamaño (también denominada VLDL1)⁷.

Se interpreta que en el SM, como consecuencia del mayor flujo de ácidos grasos libres provenientes del tejido adiposo visceral, se promovería la síntesis y secreción de VLDL con características alteradas y de mayor potencial aterogénico. De hecho, en estudios más recientes realizados en nuestro laboratorio, hemos demostrado que VLDL con características alteradas de pacientes con SM provocan disfunción endotelial⁸.

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 también hemos observado una disminución en la actividad de LPL en pacientes con SM. Si bien la actividad de LPL en los estados de insulinoresistencia es controvertida, otros autores reportan una disminución en la masa circulante de LPL en pacientes con SM respecto de controles⁹. Estos resultados sugieren que en el SM ocurriría un enlentecimiento en el catabolismo de VLDL vía LPL, a la vez que también habría una sobreproducción hepática de VLDL con características alteradas, lo que favorece la acumulación de partículas de VLDL anómalas en circulación.

Como ya se ha mencionado, la ADP es una citoquina con propiedades antiinflamatorias e insulinosensibilizante y posee un rol importante en la regulación del metabolismo lipídico hepático^{10,11}, que se encuentra generalmente disminuida en el SM. Resultan interesantes, entonces, las asociaciones negativas encontradas entre ADP y la masa total de VLDL, el número de partículas de VLDL y la proporción de VLDL grandes. 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. Todas estas asociaciones resultaron independientes de la obesidad y la insulinoresistencia, por lo que serían inherentes a la acción de ADP.

Estos resultados sugieren que, en el contexto de la insulinoresistencia, la disminución de ADP no sólo favorecería la síntesis y secreción hepática de VLDL sobre-enriquecidas en triglicéridos y de mayor tamaño, sino que también retardaría el catabolismo de VLDL mediado por LPL. De esta manera, la disminución de ADP promovería la acumulación de VLDL alteradas, contribuyendo al estado aterogénico del SM.

BIBLIOGRAFÍA

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 Oct 20; 120 (16): 1640-5.

2. Lucero D, Miksztowicz V, Macri V, López GH, Friedman S, Berg G, *et al.* Overproduction of altered VLDL in an insulin-resistance rat model: Influence of SREBP-1c and PPAR- α . *Clin Investig Arterioscler*. 2015 Jul-Aug; 27 (4): 167-74.

3. 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 Mar; 45 (4-5): 293-7.

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 Mar; 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 Dec 26; 17 (12): 1201-11.

6. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Dec; 17 (12): 3542-56.

7. 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 Jul; 28 (7): 1225-36.

8. Lucero D, López GI, Gorzalczany S, Duarte M, González Ballerga E, Sordá J, *et al.* Alterations in triglyceride rich lipoproteins are related to endothelial dysfunction in metabolic syndrome. *Clin Biochem*. 2016 Aug; 49 (12): 932-5.

9. 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 Apr; 76 (1): 93-101.

10. 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 Mar; 51 (3): 578-85.

11. Tao C, Sifuentes A, Holland WL. Regulation of glucose and lipid homeostasis by adiponectin: effects on hepatocytes, pancreatic β cells and adipocytes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jan; 28 (1): 43-58.