

Actividad de lipoproteína lipasa en el tejido adiposo epicárdico de pacientes con enfermedad coronaria: ¿Es determinante de la composición de las lipoproteínas de muy baja densidad circulantes?

Bioq. Magalí Barchuk,^{1,2} Dra. Verónica Mikszowicz,^{1,2,3} Bioq. Graciela López,^{1,2} Dra. María del Carmen Fernández Tome,⁴ Dr. Miguel Rubio,⁵ Dra. Laura Schreier,^{1,2} Dra. Gabriela Berg^{1,2,3}

Resumen

Introducción: El tejido adiposo epicárdico (TAE) es un tejido adiposo visceral, metabólicamente activo, cuyo aumento de volumen se asocia con mayor riesgo de enfermedad coronaria (EC). La lipoproteína lipasa (LPL) es la enzima encargada de hidrolizar los triglicéridos (TG) de los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Esta enzima es altamente regulada, tanto a nivel transcripcional como postraduccional, por lo que es condicionante de la composición y, en consecuencia, de la aterogenicidad de las lipoproteínas circulantes. Nuestro objetivo fue evaluar la actividad de la LPL en TAE de pacientes con EC y asociarla con las características de las VLDL circulantes de estos.

Materiales y métodos: En TAE y TA subcutáneo (TAS) de pacientes con EC (n = 39) y sin EC (grupo control, No EC, n = 24), se evaluó actividad de la LPL. En el suero se evaluó el perfil lipídico-lipoproteico, se aislaron las VLDL por ultracentrifugación y se caracterizaron por su composición lipídica y proteica.

Resultados: La actividad de la LPL en TAE de pacientes con EC fue mayor respecto del grupo No EC (p = 0.013). En cada grupo, la actividad de LPL fue mayor en TAE respecto de TAS (p < 0.001). No se encontraron diferencias entre los grupos en cuanto a contenido lipídico ni proteico de las VLDL. Los TG (r = -0.529) y la masa de VLDL (r = -0.541), así como el índice TG/proteínas (r = -0.691), se asociaron en forma inversa a la actividad de LPL de TAE (p = 0.05), no así de TAS.

Conclusiones: El TAE de los pacientes con EC presenta mayor actividad de LPL. La actividad de LPL de TAE y no la de TAS contribuiría en la composición de VLDL circulante.

PALABRAS CLAVE: enfermedad coronaria, tejido adiposo epicárdico, lipoproteínas de muy baja densidad, resistencia a la insulina.

¹Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Bioquímica Clínica, Cátedra de Bioquímica Clínica I. ²UBA, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). ³UBA, CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica. ⁴UBA, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biología Celular y Molecular, Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas (IQIFIB), CONICET. ⁵UBA, Hospital de Clínicas José de San Martín, División de Cirugía Cardiovascular, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular, primera causa de muerte en el mundo occidental, constituye una de las enfermedades crónicas no transmisibles más representativa, cuya prevalencia aumenta en forma continua debido a factores de riesgo cardiometabólicos ligados al estilo de vida actual. Estos factores, en su mayoría modificables, incluyen entre otros la obesidad, la dislipidemia aterogénica y la resistencia a la insulina (RI). La obesidad se caracteriza por el aumento del tejido graso, cuya magnitud y distribución condicionan la salud de los individuos. El tejido adiposo (TA), especialmente el abdominal, es un órgano complejo, metabólicamente muy activo, capaz de producir distintas adipocitoquinas y hormonas, responsables de comorbilidades endocrino-metabólicas como la diabetes mellitus tipo 2.

En los últimos años se ha propuesto al TA epicárdico (TAE) como nuevo factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular.¹ El TAE es un tipo de TA visceral, ubicado sobre el miocardio y alrededor de las arterias coronarias. Dado que no existe fascia ni tejidos similares que separen al TAE del miocardio y de los vasos coronarios, existiría una interacción entre estas estructuras, cuyo resultado es prácticamente desconocido. El TAE, al igual

Recibido en febrero de 2018 - Aceptado en marzo de 2018
Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Correspondencia

Prof. Dr. Gabriela Berg. E-mail: gaberg@ffyba.uba.ar

Abreviaturas: AG: ácidos grasos; EC: enfermedad coronaria
RI: resistencia a la insulina; LRT: lipoproteínas ricas en triglicéridos; LPL: lipoproteína lipasa; TA: tejido adiposo; TG: triglicéridos; TAE: tejido adiposo epicárdico; TAS: tejido adiposo subcutáneo; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

que el TA abdominal, es un órgano metabólicamente activo que produce distintas adipocitoquinas.² Dada la proximidad del TAE con la adventicia de las arterias coronarias y el miocardio subyacente y su irrigación por las mismas arteriolas coronarias, se ha sugerido que el TAE modularía la morfología y función cardiovascular a través de mecanismos paracrinos o vasocrinos.²

Se ha informado que el aumento de volumen del TAE favorecería la vulnerabilidad de la placa aterosclerótica, por lo que sería predictor de enfermedad coronaria (EC).³

En trabajos previos nuestro laboratorio abordó el estudio del comportamiento de metaloproteasas involucradas en el remodelamiento de la matriz extracelular del TAE en pacientes con EC.⁴

La expansión del TAE dependería del mayor flujo de ácidos grasos (AG) provenientes del catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT) o de los AG libres circulantes. El catabolismo de las LRT en el TA es críticamente determinado por la acción de la LPL; sin embargo, el mecanismo por el cual se regula la actividad de LPL en los diferentes tejidos, tanto en ayunas como en estado posprandial, es aún controvertido y en muchos aspectos desconocido.^{5,6} En el TA abdominal la actividad de la LPL está disminuida en estado de RI.⁷ Su comportamiento estaría regulado tanto a nivel traduccional (PPAR)^{8,9} como postraduccional (proteínas similares a la angiopoyetina [ANGPTL] y apoproteína [apo] CII/CIII).⁹ A su vez, es sabido que la insulina es un importante regulador de la síntesis y actividad de la enzima.⁹ Sin embargo, el comportamiento de la LPL en el TAE y su asociación con las características de las LRT circulantes en la EC es prácticamente desconocido.

Nuestra hipótesis de trabajo es que en pacientes con EC, la actividad de la LPL estaría alterada, lo cual favorecería la expansión del TAE, pudiendo ser en parte responsable de la composición lipídica de las LRT circulantes. En función de la hipótesis planteada, el objetivo del presente trabajo fue medir la actividad de la LPL en el TAE para verificar si la actividad de la enzima en pacientes con EC se encuentra alterada y si se asocia con la composición de las VLDL.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se estudiaron hombres y mujeres adultos, reclutados en forma consecutiva, provenientes de la División Cirugía Cardíaca del Hospital de Clínicas, bajo la dirección del Dr. Miguel Rubio. Se conformaron dos grupos de pacientes, uno con diagnóstico de EC derivado a cirugía de *bypass* (n=39) y un grupo control (No EC) constituido por pacientes con indicación de cirugía cardiovascular no coronaria (reemplazo valvular, plástica mitral, tumores intracavitarios) con arterias coronarias angiográficamente normales (n = 24). En el momento del ingreso se recolectaron retrospectivamente los datos demográficos de factores de riesgo cardiovascular, medicación previa, datos clínicos, peso, altura y presión arterial. Se registraron datos de tabaquismo, tratamientos farmacológicos y otras enfermedades. Se excluyeron los individuos que consumieran más de 20 g/día de alcohol, que presentaran alteraciones tiroideas (TSH > 1.5 veces o uso de levotiroxina), renales (creatinemia > 1.5 mg/dl), aquellos sometidos a cirugía cardiovascular previa o con infecciones concomitantes (enfermedad de Chagas, VIH, serología positiva para hepatitis B o C). Se diagnosticó síndrome metabólico de acuerdo con los criterios establecidos por el *Adult Treatment Panel III*.¹⁰ El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas "José de San Martín". Los pacientes firmaron el consentimiento informado correspondiente y se respetó la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su última versión.

Medidas antropométricas

A todos los pacientes se los pesó con ropas livianas y sin calzado, se les midió su altura y se calculó el índice de masa corporal como peso (kg)/altura² (m²) para evaluar el grado de obesidad.

Obtención de muestras

Se obtuvieron muestras de suero y plasma después de 12 horas de ayuno, antes de la cirugía. Durante la cirugía, antes de realizar el procedimiento quirúrgico correspondiente, se obtuvieron muestras de TAE (0.1-1.0 g) provenientes de la región superior del ventrículo derecho; paralelamente se obtuvieron

muestras de TAS (≤ 2.0 g) de la región torácica. Las fracciones se conservaron en N₂ para las distintas determinaciones.

Procedimientos analíticos

A- En suero, se determinaron los niveles de glucemia, colesterol (C) total, triglicéridos (TG), HDL-C y LDL-C por métodos enzimático-colorimétricos de punto final (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) en autoanalizador Cobas C-501. Además, se determinó TG/HDL-C como indicador secundario de resistencia a la insulina.

La separación de VLDL se llevó a cabo por ultracentrifugación secuencial preparativa.¹¹ En las VLDL aisladas se determinó el contenido de colesterol y TG, según métodos descriptos; fosfolípidos según el método de Fiske,¹² y proteínas, según Lowry.¹³ Se calcularon los índices TG/proteínas, lípidos/proteínas y colesterol/TG como estimadores de la composición lipídica de VLDL, además de la masa de VLDL como estimador del tamaño de la partícula.

B- La medida de la actividad TG-hidrolasa de la LPL se determinó por el método de Nilsson-Ehle,¹⁴ realizando previamente la extracción de la enzima del endotelio capilar del TA con *buffer* Krebs Ringer conteniendo 2.5 UI de heparina. La actividad de LPL se expresó como los moles de AG liberados por miligramo de tejido por hora.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media \pm DS o mediana (rango) según su distribución fuera normal o no paramétrica, respectivamente. Las diferencias entre grupos se evaluaron utilizando la prueba de la *t* de Student o la prueba de Mann-Whitney, según la distribución de los datos.

Los análisis de Pearson o Spearman, para variables paramétricas o no paramétricas, se utilizaron para evaluar las correlaciones entre los distintos parámetros.

Para los diferentes análisis estadísticos se utilizaron el paquete estadístico SPSS 19.0 y el *software* GraphPad Prism 5.01. Se consideraron significativos valores de $p < 0.05$.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran las características clínico-bioquímicas de los pacientes con y sin EC. No hubo diferencias entre grupos en los parámetros estudiados, solamente se observó un mayor consumo de aspirina en los pacientes con EC, así como mayor grado de RI evaluado por medio del índice TG/HDL-C.

Tabla 1. Características clínico-bioquímicas de la población en estudio.

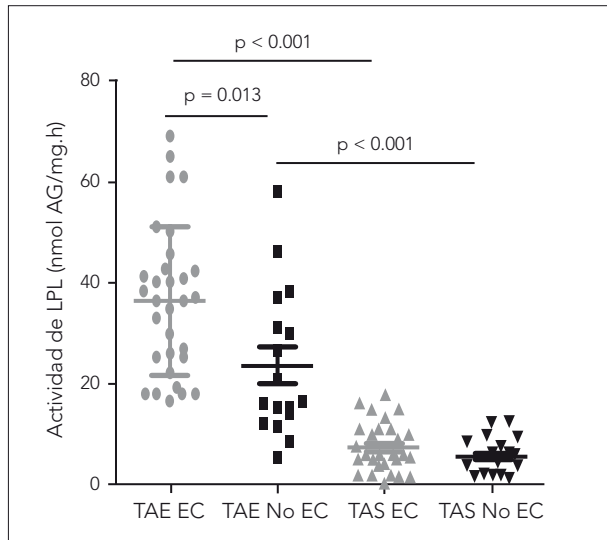
	No EC (n = 24)	EC (n = 39)
Edad (años)	69 \pm 9	66 \pm 10
M/H	7/17	10/29
PAS (mm Hg)	130 \pm 24	135 \pm 20
PAD (mm Hg)	74 \pm 14	73 \pm 11
IMC (kg/m ²)	27.6 \pm 3.8	26.8 \pm 2.9
HTA (%)	67	54
DLP (%)	25	29
Ex TBQ (%)	65	59
Estatinas (%)	74	76
IECA (%)	50	47
β -Bloqueantes (%)	50	76
Aspirina (%)	40	76*
TG	108 (34-200)	121 (51-284)
Colesterol total	187 (64-217)	135 (66-220)
LDL-C	121 (28-160)	100 (21-273)
HDL-C	35 \pm 7	31 \pm 8
C-No HDL	115 (36-183)	110 (33-227)
LRT	15 (6-47)	18 (2-75)
Glucosa	104 (88-158)	107 (72-200)
TG/HDL-C	3.1 (1.2-6.1)	3.9 (1.7-11.0) ^o

Los resultados se expresan como media \pm DS o mediana (rango). Los valores del perfil bioquímico se expresan en mg/dl. * $p = 0.01$, test χ^2 ; ^o $p = 0.05$, U de Mann-Whitney vs No EC.

M/H: mujeres/hombres, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, IMC: índice de masa corporal, HTA: hipertensión arterial, DLP: dislipidemia, TBQ: tabaquismo, IECA: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, LRT: lipoproteínas ricas en TG.

Los pacientes con EC presentaron mayor actividad de LPL en TAE respecto de los pacientes sin EC; a su vez, la actividad de LPL de TAE fue mayor que la de TAS en ambos grupos (Figura 1), aun luego

Figura 1. Actividad de lipoproteína lipasa (LPL) en TAE y TAS. La actividad de LPL fue menor en TAE de EC respecto a No EC, y mayor en TAE respecto de TAS en ambos grupos.



Referencias: LPL: lipoproteína lipasa, nmol AG/mg.h: nanomoles de ácidos grasos liberados por miligramo de tejido por hora, EC: enfermedad coronaria. Prueba de la t de Student.

Tabla 2. Composición lipídica-proteica e indicadores de las características de VLDL.

	No EC	EC
TG (mg/dl)	22 (3-43)	25 (5-82)
Colesterol (mg/dl)	7 (2-11)	10 (1-30)
Fosfolípidos (mg/dl)	2 (1-3)	2 (1-6)
Proteínas (mg/dl)	11 ± 5	14 ± 7
Masa de VLDL (mg/dl)	43 (11-75)	43 (10-140)
TG/Proteínas	1.8 ± 0.6	2.4 ± 1.3
Colesterol/TG	0.30 ± 0.07	0.30 ± 0.09
Lípidos/Proteínas	2.6 ± 0.7	3.6 ± 2.1*

Los resultados se expresan como media ± DS o mediana (rango) según su distribución.

*p = 0.07. Test t de Student. TG: triglicéridos.

de corregir por el consumo de aspirina (F = 5.85; p = 0.006) y por el grado de RI (F = 3.55; p = 0.039).

Al evaluar la composición de las VLDL separadas no se encontraron diferencias entre grupos de pacientes (Tabla 2). Para evaluar las características de las VLDL se calculó la masa y los índices TG/proteínas, lípidos/proteínas y colesterol/TG, observándose una tendencia a un mayor índice lípidos/proteínas en el grupo EC respecto del grupo No EC (Tabla 2).

Tabla 3. Correlaciones entre las características de VLDL circulantes y la actividad de LPL de TAE y TAS.

	Actividad de LPL	
	TAE	TAS
Triglicéridos	-0.529*	-0.123
Colesterol	-0.307	0.072
Fosfolípidos	-0.154	0.017
Proteínas	0.015	0.107
Masa de VLDL	-0.541*	-0.020
TG/Proteínas	-0.691*	-0.171
Colesterol/TG	0.069	0.315
Lípidos/Proteínas	-0.099	-0.136

Se muestran los valores de R. Los valores de lípidos, proteínas y masa de VLDL se expresan en mg/dl. La actividad de LPL se expresa en nmol AG/mg.h.

*p = 0.05. Correlación de Pearson o Spearman según corresponda.

Al estudiar la contribución de la LPL de los tejidos estudiados en la composición de VLDL, se observó que solo la LPL del TAE se asoció inversamente con los TG, la masa y el índice TG/proteínas de las VLDL (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran por primera vez que el TAE de pacientes con EC presenta mayor actividad de LPL que el de los pacientes sin EC, sin diferencias en el TAS entre grupos.

En los últimos años, la comunidad científica ha tratado de explicar la asociación entre el TAE expandido y la EC. Dada la proximidad del TAE con la adventicia de las arterias coronarias y el miocardio subyacente y su irrigación por las mismas arteriolas coronarias, se ha sugerido su posible papel en la patogénesis de la EC,¹⁵ a través de la secreción de distintas adipocitoquinas^{2,16} y la producción de AG libres¹⁷ que podrían actuar a través de mecanismos paracrinos (desde el TAE atravesando la pared coronaria por difusión) o vasocrinos (directamente del TAE vía *vasa vasorum* a la pared arterial¹⁵).

La expansión del TAE se asocia con distintos factores cardiometabólicos como la obesidad, la RI y la hipertrigliceridemia.¹⁸⁻²⁰ El estudio Framingham ha demostrado que la acumulación de TAE contribuye más significativamente al proceso de aterosclerosis

coronaria y al infarto agudo de miocardio que la obesidad abdominal.¹⁹ Sin embargo, los mecanismos involucrados en esta asociación son prácticamente desconocidos.

El fenómeno de aterosclerosis por “difusión de afuera hacia adentro” fue propuesto en 1989 ante la observación de la migración leucocitaria desde la adventicia hacia la íntima.²¹ Más recientemente, fueron los hallazgos de Mazurek y col.,² que describieron el aumento de expresión de la proteína quimioattractante de monocitos (MCP-1) y un mayor proceso inflamatorio en el TAE de pacientes con EC, los que despertaron el interés científico por este tejido. El estudio del TAE es aún controvertido, se ha descrito que presenta adipocitos más pequeños que el TAS,^{4,22} sin diferencias entre pacientes con EC y sin EC. Sin embargo, recientemente, otros autores describen aumento de tamaño de los adipocitos en TAE de pacientes con EC.²³ El TAE se caracterizaría por un aumento en la síntesis y el catabolismo de AG, por lo que ha sido propuesto como grasa “buffer” que sirve para proteger al corazón contra la esteatosis cardíaca generada por los AG libres.²⁴ Sin embargo, ante la expansión e inflamación del TAE, el “diálogo” entre ambos tejidos se alteraría con interacción entre adipocitoquinas proinflamatorias y el depósito de grasa intramiocárdica que también acompaña el proceso de RI.²⁵

La llegada de los AG hacia el TAE provendría del catabolismo de las LRT o de los AG libres circulantes. Nuestros resultados indican que la LPL del TAE intervendría activamente en la hidrólisis de los TG de las lipoproteínas circulantes, lo que promovería un mayor flujo de AG al TAE y, consecuentemente, su expansión. Llamativamente, el grupo EC presentó mayor actividad de LPL a pesar del mayor grado de RI de estos pacientes. Por lo tanto, en el TAE el comportamiento de la LPL, independiente del grado de RI, sugiere que otros posibles mecanismos, aún no dilucidados, sean reguladores de la actividad enzimática. Las ANGPTL, específicamente ANGPTL3, ANGPTL4 y ANGPTL8, han sido propuestas como inhibidoras fisiológicas de la LPL, dependiendo del tejido y del estado de ayunas o posprandial. La ANGPTL3 y la ANGPTL8 son factores circulantes, sintetizados en el hígado, y actúan de manera endocrina sobre la LPL del TA.⁵ La sobreexpresión de

ANGPTL8 se asocia con aumento de ANGPTL3⁵ e hipertrigliceridemia,²⁶ en tanto que en ratones carentes de esta proteína se observa aumento de actividad de LPL y TG plasmáticos disminuidos.²⁷ La ANGPTL4, sintetizada en adipocitos blancos en condiciones de ayuno, sería un inhibidor específico de la LPL del TA.²⁸ Pacientes con pérdida de la funcionalidad de ANGPTL4 presentan valores de TG plasmáticos disminuidos.²⁹ Es necesaria la realización de un mayor número de estudios para dilucidar la función fisiológica de las tres ANGPTL en la regulación de la actividad de la LPL.

Otros mecanismos reguladores de actividad de la LPL son los niveles circulantes de apoCII y A5 (activadoras) y CIII (inhibidora), contenidas en las LRT. La relación entre estas apoproteínas, dependiente del estado metabólico de los pacientes y de los distintos polimorfismos que pueden presentar, condiciona la actividad de la LPL y el catabolismo de las LRT.³⁰

Por otra parte, la expresión de la LPL podría estar regulada por los niveles de PPAR γ del TAE e indirectamente depender del tipo de AG presentes en el tejido. Se ha descrito que la cantidad y el tipo de AG dentro del TA juegan un papel fundamental en el desarrollo de la aterosclerosis.³¹ La estimulación o inhibición de PPAR γ según el perfil de AG condicionaría también la actividad de LPL.

Una de las limitaciones del presente trabajo es el tamaño muestral, sin embargo, debe considerarse la dificultad de obtener TAE humano para su estudio molecular, lo cual hace novedoso al trabajo. A su vez, es de interés a futuro el estudio de la expresión de los reguladores mencionados anteriormente, objetivo en el cual nuestro grupo ya se encuentra trabajando.

CONCLUSIONES

En la EC la actividad aumentada de LPL en el TAE contribuiría a la expansión de este tejido favoreciendo el desarrollo de esta afección. La mayor actividad de esta enzima en el TAE podría contribuir a la composición de las LRT circulantes. Un mayor conocimiento del comportamiento de LPL de TAE aportaría evidencias para el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sacks HS, Fain JN. Human epicardial adipose tissue: a review. *Am Heart J*. 2007; 153(6):907-17.
2. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation*. 2003; 108(20):2460-6.
3. Iacobellis G, Malavazos AE, Corsi MM. Epicardial fat: from the biomolecular aspects to the clinical practice. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011; 43(12):1651-4.
4. Miksztowicz V, Morales C, Barchuk M, López G, Póveda R, Gelpi R, et al. Metalloproteinase 2 and 9 Activity Increase in Epicardial Adipose Tissue of Patients with Coronary Artery Disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017; 15(2):135-143.
5. Zhang R. The ANGPTL3-4-8 model, a molecular mechanism for triglyceride trafficking. *Open Biol*. 2016; 6:(4).
6. Dallinga-Thie GM, Kroon J, Borén J, Chapman MJ. Triglyceride-Rich Lipoproteins and Remnants: Targets for Therapy? *Curr Cardiol Rep*. 2016; 18(7):67.
7. Wang H, Eckel RH. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 297(2):E271-88.
8. Kersten S. Peroxisome proliferator activated receptors and lipoprotein metabolism. *PPAR Res*. 2008; 2008:132960
9. Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1841(7):919-33.
10. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 17; 106(25):3143-421.
11. Schumaker VN, Puppione DL. Sequential flotation ultracentrifugation. *Methods Enzymol*. 1986; 128:155-70.
12. Fiske CH and Subbarow Y. *J. Biol. Chem.*, Vol. 66(375)-1925
13. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem* 1951; 193 pp. 265-75.
14. Nilsson-Ehle P, Ekman R. Rapid, simple and specific assay for lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Artery* 1977; 3(3):194-209.
15. Rabkin SW. The relationship between epicardial fat and indices of obesity and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014; 12(1):31-42.
16. Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, Blaha J, Anderlova K, Lacinova Z, et al. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(11):4620-7.
17. Dutour A, Achard V, Sell H, Naour N, Collart F, Gaborit B, et al. Secretory type II phospholipase A2 is produced and secreted by epicardial adipose tissue and overexpressed in patients with coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95(2):963-7.
18. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, Ciociaro D, Positano V, Buzzigoli E, et al. Visceral fat in hypertension: influence on insulin resistance and beta-cell function. *Hypertension* 2004; 44:127-33.
19. Mahabadi AA, Massaro JM, Rosito GA, Levy D, Murabito JM, Wolf PA, et al. Association of pericardial fat, intrathoracic fat, and visceral abdominal fat with cardiovascular disease burden: the Framingham Heart Study. *Eur Heart J* 2009; 30:850-56.
20. Iacobellis G, Ribaldo MC, Assael F, Vecchi E, Tiberti C, Zappaterreno A, et al. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5163-68.
21. Prescott MF, McBride CK, Court M. Development of intimal lesions after leukocyte migration into the vascular wall. *Am J Pathol*. 1989; 135(5):835-46.
22. Bambace C, Telesca M, Zoico E, Sepe A, Oliosio D, Rossi A, et al. Adiponectin gene expression and adipocyte diameter: a comparison between epicardial and subcutaneous adipose tissue in men. *Cardiovasc Pathol*. 2011; 20(5):e153-6.
23. Vianello E, Dozio E, Arnaboldi F, Marazzi MG, Martinelli C, Lamont J, et al. Epicardial adipocyte hypertrophy: Association with M1-polarization and toll-like receptor pathways in coronary artery disease patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016; 26(3):246-53.
24. Iacobellis G. Epicardial fat: a new cardiovascular therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol*. 2016; 27:13-8.
25. Cherian S, Lopaschuk GD, Carvalho E. Cellular cross-talk between epicardial adipose tissue and myocardium in relation to the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012; 15:303(8):E937-49.
26. Zhang R. Lipasin, a novel nutritionally regulated liver-enriched factor that regulates serum triglyceride levels. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2012; 424:786-92.
27. Wang Y, Quagliarini F, Gusarova V, Gromada J, Valenzuela DM, Cohen JC, et al. Mice lacking ANGPTL8 (betatrophin) manifest disrupted triglyceride

metabolism without impaired glucose homeostasis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2013; 110:16109-14.

28. Dijk W, Heine M, Vergnes L, Boon MR, Schaart G, Hesselink MK, et al. ANGPTL4 mediates shuttling of lipid fuel to brown adipose tissue during sustained cold exposure. *Elife* 2015; 4, e8428.

29. Romeo S, Yin W, Kozlitina J, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Hobbs HH, et al. Rare loss of function mutations in ANGPTL family members contribute to plasma triglyceride levels in humans. *J Clin Invest.* 2009; 119,70-9.

30. Yang G, Lei MM, Yu CL, Liu XX, An Z, Song CL. Apolipoprotein A5 and apolipoprotein C3 single nucleotide polymorphisms are correlated with an increased risk of coronary heart disease: a case-control and meta-analysis study. *Lipids Health Dis.* 2015; 14:113.

31. Hajar GR, Haeflgen TW, Visseren FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J* 2008; 29:2959-71.