

# LDL PEQUEÑAS Y DENSAS: IMPORTANCIA DE SU DETERMINACIÓN

**MARÍA ISABEL GIACOPINI**

*Sección de Lipidología, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.*

*maria.giacopini@ucv.ve*

## **Resumen**

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son heterogéneas con respecto a su tamaño, densidad y composición lipídica. Entre las partículas de LDL, las más pequeñas y densas (LDLpd) son más aterogénicas y el fenotipo LDLpd está fuertemente asociado con el desarrollo de la enfermedad coronaria. Aquí revisamos recientes estudios sobre la subclase LDLpd y la importancia de su determinación.

**Palabras Claves:** *LDL pequeña y densa. Fenotipo aterogénico. Enfermedad arteria coronaria.*

## **Abstract**

Low density lipoprotein (LDL) particles are heterogeneous with respect to their size, density and lipid composition. Among LDL particles, the smaller and denser LDL particles (sdLDL) are more atherogenic and the sdLDL phenotype is strongly associated with development of coronary heart disease. Here we will review recent studies involving sdLDL subclass and the importance of measurement of sdLDL.

**Keywords:** *Small dense LDL. Atherogenic lipoprotein phenotype. Coronary heart diseases.*

## **Introducción**

La Organización Mundial de la Salud (OMS), afirma que las enfermedades cardiovasculares (ECV) causan más de 17 millones de muerte en el mundo cada año y representan un tercio de todas las muertes en todo el mundo. Las ECV no sólo son la principal causa de muerte y discapacidad en los países desarrollados, sino también en países en vías de desarrollo. (OMS. 2010)

---

Por muchas décadas se ha aceptado que el riesgo de ECV, puede ser estimado por la concentración de triglicéridos totales (TG), colesterol total (CT), y particularmente colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL- C) en el plasma. (Castelli y col.1986).

Sin embargo, numerosas investigaciones indican que existe una considerable proporción de pacientes con ECV, con concentraciones LDL-C dentro de los rangos de concentración recomendados. Esto es atribuible, a que su determinación no provee información sobre su heterogeneidad y aterogenicidad.

A continuación, trataremos algunos aspectos relacionados con la subclase de LDL más aterogénica, la LDL pequeña y densa (LDLpd) y la importancia de su determinación.

### Heterogeneidad de la LDL

Las LDL comprenden distintas subclases de partículas que difieren en tamaño, densidad, composición, función metabólica y capacidad aterogénica. Mediante la aplicación combinada de las técnicas de ultracentrifugación sucesiva (Gofman y col; 1949), gradiente de densidad (Kraus y col. 1982), y electroforesis en geles de gradientes (EGPA) (Griffin y col.1990), se han aislado del plasma de individuos normales varias subclases de LDL (Havel y col; 1955). Éstas han sido clasificadas en base a su densidad y tamaño de la partícula en cuatro subclases principales designadas como: LDLI (1,022 – 1,032 g/mL) – LDLII (1,032 – 1,038 g/mL) – LDLIII (1,038 – 1,050 g/mL) y en casos de hipertrigliceridemia severa se observa una subclase muy pequeña y densa LDL IV (1,050 – 1,063 g/mL.), haciéndose más pequeñas con el aumento de la densidad (Austin y col. 1988). El tamaño de las LDL humanas presenta una distribución bimodal que dan lugar a dos fenotipo, uno de LDL pequeño y densa (LDL –III) y otro de grandes y menos densas (LDL-I y LDL-II). Estos fenotipos fueron denominados patrón A y B. El patrón B constituido por partículas LDLpd, menores de 258 Å; y el patrón A por las LDL mayores a 258 Å (Tabla 1).

**Tabla I.** Clasificación de las Subclases

Subclases de LDL	Densidad (g/ml)	Diámetro (Å)	Patrón	Tipo de LDL
I	1.025 - 1.032	260-275	A	Grande
II	1.032 - 1.038	255-270	A	Grande
III	1.038 - 1.050	247-252	B	Pequeña
IV	1.050 - 1.063	242-246	B	Pequeña

El patrón A, está presente en sujetos con concentraciones de triglicéridos menores a 0.5 m.mol/L (<44 mg/dL) mientras el patrón B se encuentra en individuos cuya concentración de TG excede los 2.0 m.mol/L (> 177mg/dL) (Austin y col.1990).

La concentración de las LDLpd permanecen debajo de 100 mg/dL hasta que la concentración de TG alcanza 1.5 mmoles/L (134 mg/dL) (Griffin y col.1994).

### Factores que determinan el fenotipo B

El predominio de LDLpd (patrón B) está determinado por factores genéticos, y no genéticos, entre los que cabe citar la obesidad abdominal, los hormonales y nutricionales, que pueden influir en la expresión de este fenotipo. (Austin y col. 1993; Silliman y col. 1994)

### Factor genético

El fenotipo de las LDLpd, está determinado en parte por factores genéticos, con una heredabilidad que varía entre el 35 y el 45%. El predominio de las LDLpd se encuentra en conjunción con alteraciones familiares del metabolismo lipídico, que están asociadas a un riesgo aumentado de enfermedad cardíaca coronaria prematura, como hiperlipemia combinada, hiper-beta-lipoproteinemia e hipo-alfa-lipoproteinemia (Berneis y col. 2002)

Austin y col 1993, demostraron que la prevalencia del fenotipo B es aproximadamente del 30% en hombres adultos; del 5 al 10% en hombres y mujeres jóvenes (<20 años), y del 15 al 25% en mujeres posme-

nopáusicas. Estudios de familias con hiperlipemia combinada revelaron que el patrón B está íntimamente ligado a la presencia de concentraciones elevadas de triglicéridos.

Existen evidencias, que indican que el patrón B, o altas concentraciones de LDLpd es muy común en sujetos con resistencia a la insulina o con diabetes Millitus no dependientes de insulina. Esta asociación entre predominio de las LDL pd (patrón B) y la resistencia la insulina se debe a la concentración elevada de TG en plasma. (Tan y col; 1995).

### Factor nutricional

El contenido de grasa y el tipo de ácidos grasos de la dieta pueden modular el diámetro y densidad de las partículas de LDL, y pueden influir en la expresión del fenotipo B (LDLpd). Estudios realizados por Krause y col. (1995), indicaron que la ingesta de dietas bajas en grasa provoca en una proporción significativa de individuos (41%) un cambio de patrón A (LDL grande) a patrón B (LDLpd). Por el contrario, ninguno de los participantes en el estudio con patrón B experimentó cambio al patrón A.

También se ha observado que el consumo de aceites parcialmente hidrogenados con un alto contenido de ácidos grasos trans, reducen la concentración de HDL-C, y elevan la de triglicéridos en plasma, condiciones que se asocian con la resistencia a la insulina, LDLpd, y aumenta el riesgo de ECV (Mensink y col. 1990; Caggiula y col .1997; Mauger y col. 2003; Kim y col. 2005; Giacopini MI. 2008).

A diferencia de estos ácidos grasos, se ha

encontrado que el consumo de los ácidos  $\omega$ 3 eicosapentanoico (EPA) o docosahexanoico (DHA) disminuye la concentración de TG, y conduce a la formación de LDL grande y poco densa. Lo cual posiblemente es debido a que este ácido graso potencia en menor grado la actividad de la proteína de transferencia de los ésteres de colesterol (Davidson. 2006). Un estudio reciente en individuos con SM, indica que un consumo por 3 meses de 1,8 g/día de EPA purificado, disminuye la concentración de LDLpd en individuos con SM. (Satoh y col. 2007). Por consiguiente, el fenotipo de LDL puede ser significativamente modificado por la cantidad y calidad de las grasas de la dieta.

### **Aterogenicidad de las LDLpd**

Aunque históricamente se ha considerado el aumento de la concentración de LDL-c como un factor de riesgo cardiovascular, el tamaño de la LDL emerge como un nuevo e importante factor de riesgo para estas enfermedades. (Austin y col. 1988; Gardner y col. 1996; Lamarche y col. 1997). Aunque el mecanismo no ha sido bien dilucidado, existen evidencias que indican que las LDLpd son más susceptibles a oxidarse e incrementan el riesgo a enfermedad cardiovascular más que las LDL grandes y poco densas (Tribble y col. 2001). Así, entre los múltiples mecanismos que pueden contribuir a una mayor aterogenicidad de las partículas de LDLpd respecto a las de mayor tamaño y menor densidad tenemos:

#### **Menor afinidad por el receptor LDL celular**

Nigon y col; 1995, señalaron que la subclase de LDL grande y poco densa tiene una mayor afinidad por el receptor de LDL celular que la subclase de LDL pd, y es degradada a una mayor velocidad.

Una explicación de este hecho es que la conformación de ApoB100 ubicada en la superficie de la LDL, y esencial para la unión de las partículas de LDL a su receptor celular, y degradación, depende del tamaño de la LDL (Baumstark y col. 1990). Cuando la LDL es pequeña y densa, apo B posee una conformación, que disminuye su

afinidad por el receptor de LDL celular con respecto a las LDL más grandes. Por ende, las LDLpd permanecen en el plasma un mayor período de tiempo, teniendo así mayor oportunidad de infiltrar el endotelio vascular y modificarse por oxidación. (Tanfani y col.1997).

#### **Número de partículas de LDLpd**

Estudios recientes consideran que una importante manifestación de la heterogeneidad de la LDL, es la variabilidad en el número de partículas de LDL entre individuos con la misma concentración de colesterol. Ellos pueden tener más alto o más bajo número de partículas de LDL en el plasma, y como consecuencia diferir en el riesgo de ECV. (Cromwell y col. 2004).

Considerando que cada partícula de LDL contiene una molécula de apo B, y que las LDLpd transportan menos colesterol. Dos individuos con igual concentración de LDL-C, pero uno con predominantemente partículas de LDLpd (patrón B), requiere 70% más partículas de LDL para transportar la misma cantidad de colesterol que una persona con LDL grande (patrón A). (Otvos y col. 2002).

Por consiguiente individuos con patrón B (LDLpd), tiene mayor número de partículas pequeñas en circulación, lo cual aumenta la probabilidad de infiltrar el endotelio vascular, y modificarse por oxidación.

Es así que pacientes con concentraciones de LDL – C similares pero con partículas de LDLpd tienen mayor riesgo de ECV.

#### **Mayor afinidad por los proteoglicanos**

Se ha encontrado que la alta afinidad de la LDL por los proteoglicanos (PGs) medida in vitro se relaciona con manifestaciones clínicas de la aterosclerosis (Lamarche y col. 1997).

Las LDLpd, con menor concentración en lípidos polares en la superficie y cargadas más positivamente que las LDL grandes, presentan una mayor afinidad por los PGs de la pared arterial (Hurt y col. 1990).

Una explicación de este hecho es que las LDLpd tenían menos núcleo no polar cubierto por la monocapa de fosfolípidos y colesterol y presentaban mayor afinidad entre los grupos sulfato de los glicosaminoglicanos (GAG), cargados negativamente, y las cargas positivas de los aminoácidos lisina y arginina de la apo B100. (Mc Namara y col.1996).

Esto sugirió que en las LDLpd, la conformación de apo B, provoca que la secuencia de los aminoácidos 3359-3367, que se une a los GAG, esté más junta y expuesta en la superficie de la proteína y por consiguiente aumenta la afinidad por los PGs. (Boren y col. 1997).

Así, las LDLpd tienden fácilmente a asociarse a los PGs de la matriz extracelular de la íntima, formando complejos insolubles que son captados por los macrófagos, contribuyendo a la formación de las células espumosas. Además, esta interacción entre la LDLpd y el PG permitió sugerir que los PGs retienen a la LDL en la matriz extracelular, ambiente propicio que favorece la oxidación de la LDL. (Camejo y col. 1990).

#### **Mayor susceptibilidad de oxidación**

Son numerosas las potenciales modificaciones de la LDL que podrían ocurrir in vivo, pero, son las modificaciones oxidativas de las LDL, las que parecen tener sustentación experimental más vigorosa en cuanto a su relevancia biológica (Aviram y col. 1993). La modificación oxidativa de la LDL ocurre principalmente dentro de microambientes de la íntima arterial (Streinbrecher y col. 1990).

In vivo, el proceso responsable de esta modificación es la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados iniciada por los radicales libres. Esta modificación depende del contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), y de la concentración de antioxidantes liposolubles de la LDL. (Babiy y col. 1990; Esterbauer y col. 1987).

La mayor susceptibilidad de oxidación que presentan las LDLpd (LDLIII); respecto a

las grandes y menos densas (LDLI-LDLII) es consecuencia de su mayor concentración de ácido araquidónico (C20:4); respecto a la fracción de LDL grandes, ácido graso sensibles al ataque de los radicales libres. (Giacopini y col. 2002). Además, poseen una menor concentración de antioxidantes, ya que estos disminuyen con el tamaño de la LDL, lo que las hace menos resistentes a la oxidación. (Tribble y col. 2001).

Otra posible causa de la mayor susceptibilidad de oxidación de las LDLpd respecto a las LDL grande y menos densa, es atribuida a la diferencia en la conformación de apo B, lo cual posiblemente provoca diferencias en la exposición de los antioxidantes y AGPI en las subfracciones de LDL atacadas por los radicales libres durante el proceso de peroxidación lipídica. (De Graaf y col. 1991).

### Relación de la LDLpd con la ECV

Considerando los mecanismos planteados, las LDLpd son lipoproteínas altamente aterogénicas. Estudios prospectivos han demostrado que un perfil de lipoproteínas donde predomina la subclase LDLpd, está asociado con aproximadamente un riesgo 3 veces mayor de ECV (Lamarche y col. 1997). El predominio de LDLpd ha sido aceptado como un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV) por el National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III. (2001).

Una de las dificultades al tratar de determinar si las LDLpd son un predictor independiente del riesgo de enfermedad coronaria o meramente un marcador de otras anomalías lipídicas, es que la LDLpd está asociada con las concentraciones elevadas de triglicéridos y reducidas de colesterol de HDL, y resistencia a la insulina. Perfil lipídico característico del Síndrome Metabólico (SM), la diabetes mellitus, la hipertrigliceridemia de cualquier causa, y la insuficiencia renal crónica, entre otras. (Scott y col. 1997).

Análisis univariado de estudios epidemiológicos y clínicos, sobre la asociación del tamaño de la LDL con la ECV, indicaron que en la gran mayoría de los estudios exis-

te una asociación del tamaño de la LDL con el riesgo de ECV. Mientras, pocos estudios indicaron por análisis multivariado, que el tamaño de la LDL sea un predictor independiente del riesgo de ECV, después de ajustar la concentración de TG, y de HDL, (Rizzo y col. 2006).

Por lo que el análisis de las subclases de lipoproteínas debe llevarse a cabo, para poder mejorar las evaluaciones del riesgo ECV,

### Determinación de LDLpd

La distribución de las diferentes subfracciones de LDL puede determinarse mediante diferentes técnicas de laboratorio, entre las cuales la electroforesis en gel de poliacrilamida según el método de Krauss y col (1982), y la ultracentrifugación en gradiente de densidades son las más representativas. Sin embargo estas técnicas consumen tiempo y no han sido adaptadas para evaluar un número grande de sujetos o pacientes.

Desde la década de los 90 se ha propuesto un enfoque diferente para el análisis de las subclases de lipoproteínas, basado en las diferencias de señales que producen partículas de lipoproteínas de diferentes tamaños cuando son analizadas mediante espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de protones (1H-NMR) (Otvos y col, 1991; Otvos y col, 1992; Otvos y col; 1996). La principal ventaja de este método radica en que no es necesaria la separación física de las clases y subclases y el análisis por 1H-RMN provee, en unos minutos, la información que sólo se obtiene en varios días por métodos tradicionales. Otvos y col. 1991, ha desarrollado un método que permite determinar no solo el patrón de lipoproteínas, sino también el número de partículas. Bajas concentraciones de las partículas de LDL se asocian con un menor número de eventos relacionados con la enfermedad cardiovascular equivalente a más bajos niveles de colesterol LDL (Cromwell y col. 2007).

### Estimación de las LDLpd

La complejidad de los métodos hasta ahora

señalados, y la limitación de su uso para determinar las LDLpd, ha ocasionado que se estime el riesgo cardiometabólico a través de otras variables como la concentración de triglicéridos, de apolipoproteína B y la de colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C); proporcionando una aproximación indirecta del patrón B de las LDL.

Como señalamos, la mayor proporción de LDLpd se observa cuando tenemos alta concentración de triglicéridos >1.5 mmoles/L (>134 mg/dL) y concentración baja de colesterol HDL (< 40), lo cual permite estimar la presencia de LDLpd por la relación TG/HDL-C, con un punto de corte de 1.35. (Boizel y col. 2000).

Warner y col; 2002, demostraron que la relación apo B /LDL-C en plasma es un buen predictor del patrón B en individuos con diabetes tipo 2. Sin embargo, los resultados de Tallis y col, 1995 no coinciden con este hallazgo. Una posible explicación de esta discrepancia es que en individuos con concentraciones de triglicéridos altos (> 2 mmol/L), hay un mayor % de apo B en el plasma asociado a la VLDL en vez de la LDL. Por lo tanto, la relación apo B 100/ LDL-C es únicamente un buen predictor del tamaño de la partícula de LDL cuando la concentración de triglicéridos en el plasma es < 2mmol/L. (Scheffer y col; 2005).

La presencia de obesidad, síndrome metabólico o insuficiencia renal crónica, son indicadores de la posible existencia de partículas de LDLpd.

### Importancia de la determinación de las LDLpd

Las partículas de LDL pequeñas y densas actualmente se reconocen como un marcador cardiometabólico, por lo tanto su detección en el plasma puede ser útil como factor predictivo y como pesquisa de las enfermedades relacionadas con el estilo de vida que parecen asociarse con la resistencia a la insulina.

En este sentido, la metodología de su determinación por 1H-RMN provee información

que no es accesible por los análisis clínicos de lipoproteínas empleados en la actualidad. La precisión del método por <sup>1</sup>H-RMN, diseñados con técnicas de calibración multivariable, es comparable a los métodos clínicos actualmente utilizados. La eficiencia con la cual puede ser generada la data de las subclases de lipoproteínas y otras variables, abre nuevas alternativas para el diagnóstico, prevención y tratamiento de la enfermedad cardio- cerebro- vascular (ECCV) y cardiometabólicas como la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico a nivel de la población general.

## Referencias

- Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring GE, Willet WC, Krauss RM. (1988). Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 260:1917-21.
- Austin MA, Brunzell JD, Fitch WL, Krauss RM. (1990). Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns in familial combined hyperlipidemia. *Arteriosclerosis*. 10:520-530.
- Austin MA, King MC, Vranizian KM, Krauss RM (1990). Atherogenic lipoprotein phenotype: a proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*. 82:495-506.
- Austin MA, Newman B, Selby JV, Edwards K, Mayer EJ, Krauss RM. (1993). Genetics of LDL subclass phenotypes in women twins. *Arterioscler. Thromb.*;13:687-695
- Aviram, M. (1993). Modified forms of low density lipoprotein and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 98: 1-9.
- Babiy, A.V., Gebick, J.M., y Sullivan, D.R (1990). Vitamin E content and low density lipoprotein oxidizability induced by free radicals. *Artherosclerosis*. 81: 175 - 182.
- Berneis KK, Krauss RM. (2002). Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 43:1363-79.
- Boren J, Lee I, Zhu W, Arnold K, Taylor S, Innerarity T. (1998). Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the modulation of its binding activity by the carboxyl terminus in familial defective-apoB100. *J Clin Invest*. 101:1084-1093.
- Caggiula AW, Mustad VA. (1997). Effects of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations: epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*. 65: 1597S-610S.
- Camejo E, Camejo G, Rosengren B, López F, Wiklund O, Bondjers G. (1990) Differential uptake of proteoglycan- selected subfraction of low density lipoprotein by human macrophages. *J. Lipid. Res*. 31:1387-1398.
- Campos H, Genest J, Blijlevens E, McNamara J, Jenner J, Ordovas J, Wilson P, Schaefer E. (1992) Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 12:187-195
- Castelli W.; Garrison R., Wilson, P. (1986). Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *J. Am. Med. Assoc*. 256: 2835.
- Couture P, Otvos JD, Cupples LA, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM. (1999) Association of the A-204C polymorphism in the cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene with variations in plasma low density lipoprotein cholesterol levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res* 40:1883-1889.
- Cromwell W, and Otvos J. (2004). Low-density lipoprotein particle number and risk for cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Report*. 6: 381-387.
- Cromwell WC, Otvos JD, Keyes MJ, Pencina MJ, Sullivan L, Vasan RS, Wilson PW, D'Agostino RB. (2007). LDL Particle Number and Risk of Future Cardiovascular Disease in the Framingham Offspring Study - Implications for LDL Management. *J Clin Lipidol.*;1:583-592.
- Davidson M. (2006) Mechanisms for the Hypotriglyceridemic Effect of Marine Omega-3 Fatty Acids. *Am J Cardiol*,98[suppl]:27i-33i.
- De Graaf J., Hak-Lemmers LM., Hectors MPC., Demacker PNM, Hendriks CM., and Stalenhoef AF. (1991). Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler. Thromb*; 11:298 - 306.
- Esterbauer, H.; Jürgens G, Quehenberger O., Koller (1987). E.; Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J lipid Res*. 28: 495 -509.
- Giacopini M.I (2008). Efecto de los ácidos grasos trans sobre la Susceptibilidad de oxidación de las lipoproteínas. *AVFT*. 27: 19-21.
- Giacopini M.I., Bosch V. (2002). Oxidación de las lipoproteínas de alta y baja densidad del plasma humano y su correlación con la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos. *Revista de la Facultad de Medicina*. V25: 10-12.
- Gofman JM, Lindgren FT, Elliott H. (1949). Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. *J Biol Chem*. 179: 973-979.
- Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, Thomson J, Caslake MJ, Packard CJ, Shepherd J. (1994). Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*. 106:241.
- Grundy S. (1997) Small LDL, Atherogenic Dyslipidemia, and the Metabolic Syndrome. *Circulation*. .95:1-4.
- Havel R.J., Eder HA, and Bragdon J.H. (1955). Distribution and composition of ultracentrifugally separated lipoproteins

- in human serum. *J. Clin. Invest.* 34: 1345-1353
- Hurt E, Bondjers G, Camejo G. (1990). Interaction of LDL with human arterial proteoglycans stimulates its uptake by human monocyte-derived macrophages. *J Lip Res* 31:443-454.
- Hurt-Camejo E, Camejo G, Rosengren B, Lopez F, Wiklund O, Bondjers G. (1990) Differential uptake of proteoglycan-selected subfractions of low density lipoprotein by human macrophages. *J Lipid Res* 31: 1387-1398.
- Kim MK, Campos H. (2003). Intake of trans fatty acids and low – density lipoprotein size in a Costa Rican Populación. *Metabolism.* 52: 693- 8
- Kraus RM., Burke JB. (1982). Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J.Lipid. Res.* 23: 97- 104.
- Krauss RM, Dreon DM. (1995). Low-density-lipoprotein subclasses and response to a low-fat diet in healthy men. *Am J Clin Nutr,* 62, 478S-87S.
- Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Després, J-P. (1997). Small,dense, low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men: prospective results from Québec Cardiovascular Study. *Circulation* 95:69-75.
- Mauger JF; Lichtenstein AH; Ausman LM; Jalbert SM; Jauhiainen M; Ehnholm C; lamarche B. (2003 )Effect of different forms of dietary hydrogenated fats on LDL particle size. *Am J Clin Nutr.* 78 : 370-5
- McNamara J, Small D, Li Z, Schaefer E. (1996). Differences in LDL subspecies involve alterations in lipid composition and conformational changes in apolipoprotein B. *J Lipid Res* 37:1924-1935.
- Mensink RP, Katan MB. (1990).Effect of dietary fatty acids on high-density and low density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med* 323: 439-45.
- Mitmesser SH; Carr TP. (2005)Trans fatty acids alter the lipid composition and size of apoB- 100 containnig lipoproteins secreted by Hep G2 cells. *J. Nutr. Biochem.* 26: 178-83.
- National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).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. (2002). *Circulation* 106:3143–421.
- Nigon F, Lesnik P,Rouis M,and Chapman M. J. (1991). Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the celular LDL receptor. *J. Lipids. Res.* 32:1741 - 1753).
- Organización Mundial de la Salud. Enfermedades Cardiovasculares. (2009).
- Otvos J.D, Jeyarajah E.J and Cromwell W.C. (2002), Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity, *Am J Cardiol.* 90: 22–29.
- Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW, Krauss RM. (1992) Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin. Chem.* 38: 1632–1638.
- Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. (1991) Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin. Chem.* 37: 377–386.
- Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. (1996). A spectroscopic approach to lipoprotein subclass analysis. *J. Clin. Ligand Assay.* 19: 184–189.
- Otvos JD, Jeyarajah EJ, Hayes LW, Freedman DS, Janjan NA, Anderson T. (1991) Relationships between the proton nuclear magnetic resonance properties of plasma lipoproteins and cancer. *Clin Chem* 37:369-76.
- Satoh N , Shimatsu A, Kotani K, Sakane N, Yamada K, Suganami T, Kuzuya H,2 and Ogawa Y. (2007). Purified Eicosapentaenoic Acid Reduces Small Dense LDL, Remnant Lipoprotein Particles, and C-Reactive Protein in Metabolic Syndrome .*Diabetes Care* 30:144-146.
- Scheffer PG, Teerlink T, Heine RJ.(2005). Clinical significance of the physicochemical properties of LDL in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 48: 808- 816.
- Silliman K, Shore V, Forte TM. (1994). Hypertriglyceridemia during late pregnancy is associated with the formation of small, dense, low density lipoproteins and the presence of large buoyant high density lipoproteins. *Metabolism.* 43:1035–1041.
- Steinberg, D.,Witztum,J.L. (1990). Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. *J. Am. Med. Assoc.* 264: 3047 –52.
- Streinbrecher U.P., Zhang, H., y Lougheed, M. ( 1990). Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Radical Biology y Medicine.* 9: 155 – 168.
- Tallis GA, Sheffard MDS, Sobecki S, Whiting MJ. (1995).The total apolipoproteína B/ LDL- Cholesterol ratio not predict LDL particle size. *Clin Chem Acta.* 240:63-73.
- Tan KCB, Cooper MB, Ling KLE, Griffin BA, Freeman DJ, Packard CJ, Shepherd J, Hales CN, Betteridge DJ. (1995).Fasting and postprandial determinants for the occurrence of small, dense LDL spe-

- cies in non-insulin dependent diabetic patients with and without hypertriglyceridemia: the involvement of insulin, insulin precursor species and insulin resistance. *Atherosclerosis*. 113:273–287.
- Tanfani F, Galeazzi T, Curatola G, Bertoli E, Ferretti G. (1997). Reduced b-strand content in apoprotein B – 100 in smaller and denser low density lipoprotein subclasses as probed by Fourier- Transform Infrared Spectroscopy. *J. Biochem* 322:765 -769.
- The 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). (2001) *JAMA*. 285: 2486-2497.
- Tribble, D.L, Holl, L.G, Word, PD, and Krauss, R.M. (1992) Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfracciones of differing density and particle size. *Atherosclerosis*. 93-189.
- Tribble, D.L, Rizzo, M; Chait A., Lewis D.M., Blanche P.J. and Krauss R.M.; (2001). Enhanced Oxidative susceptibility and reduced antioxidant content of metabolic precursor of small, dense low-density lipoproteins. *Am. J. Med.* 110: 103-1010.
- Wägner AM, Jorba O, Rigla M, Alonso E, Ordóñez – Llanos J, Pérez A (2002). LDL- cholesterol/apolipoproteína B ratio is good predictor of LDL phenotype B in type 2 diabetes . *Acta diabetol* . 39: 215 – 220.