

ARTÍCULO ORIGINAL

Actividades de CETP y Lp-PLA2 en niños y adolescentes clasificados en base al indicador de resistencia insulínica TG / C-HDL

Martin, Maximiliano¹; Verona, Julián²; Gilligan, Lisandro²; Verona, María Florencia²; Botta, Eliana¹; Tetzlaff, Walter¹; Meroño, Tomás¹; Boero, Laura¹; Brites, Fernando¹.

¹Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

²Hospital Municipal de Balcarce "Dr. Felipe A. Fossatti", Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Contacto: Martín M; Junín 956, Ciudad Autónoma de Buenos Aires; maxie_martin@hotmail.com.

Resumen

Introducción: la obesidad infantil y sus complicaciones asociadas, como la resistencia insulínica (RI), se encuentran en aumento. Un índice de triglicéridos (TG) sobre colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) $\geq 3,0$ ha sido propuesto como marcador de RI. La RI se asocia a alteraciones en enzimas y proteínas asociadas a lipoproteínas como la proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP), la fosfolipasa A₂ asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2) y la paraoxonasa 1 (PON1). **Objetivo:** explorar la asociación entre el índice TG/C-HDL y la actividad de estas enzimas. **Materiales y métodos:** se reclutaron niños y adolescentes de 7 a 14 años de edad en Balcarce. Se cuantificaron peso, altura, IMC, glucosa, TG, colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de baja densidad (C-LDL), C-HDL y las actividades de CETP, Lp-PLA2 y PON 1. **Resultados:** CETP correlacionó con TG ($r=0,53$; $p<0,01$), CT ($r=0,38$; $p<0,01$), C-HDL ($r=-0,45$; $p<0,01$), C-LDL ($r=0,59$; $p<0,01$), TG/C-HDL ($r=0,60$; $p<0,01$), y Lp-PLA2 ($r=0,26$; $p<0,05$). Lp-PLA2 correlacionó con TG ($r=0,15$; $p<0,05$), CT ($r=0,52$; $p<0,01$), C-LDL ($r=0,53$; $p<0,01$) y TG/C-HDL ($r=0,16$; $p<0,05$). El análisis de regresión lineal múltiple mostró al índice TG/C-HDL como un predictor de CETP ($r^2=0,29$; $\beta=0,49$; $p<0,01$) y Lp-PLA2 ($r^2=0,21$; $\beta=0,32$; $p<0,05$). Veinticinco niños y adolescentes presentaron un índice TG/C-HDL $\geq 3,0$ y mayores valores de TG [164 (126-186) vs. 65 (48-72) mg/dl; $p<0,01$], CETP [250 (232-263) vs. 223 (193-237) %/ml.min; $p<0,01$] y Lp-PLA2 [4,5 \pm 1,9 vs. 3,5 \pm 1,3; $p<0,05$] junto con menor concentración de C-HDL [41 (37-49) vs. 52 (48-62) mg/dl; $p<0,01$] comparados con niños y adolescentes con TG/C-HDL $< 3,0$ pareados por edad. **Conclusión:** los niños y adolescentes con TG/C-HDL $\geq 3,0$ presentaron un perfil más aterogénico y mayores actividades de CETP y Lp-PLA2.

Palabras clave: triglicéridos, HDL, CETP, Lp-PLA2.

Abstract

Introduction: in the last decades, a worldwide increase in childhood obesity and its associated complications, like insulin resistance, has been observed. Triglyceride (TG) above high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) index ≥ 3.0 has been proposed as an accessible marker of insulin resistance (IR). IR is associated with many alterations of lipoprotein-associated enzymes such as cholesteryl ester transfer protein (CETP), lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA2) and paraoxonase 1 (PON1). **Objective:** to explore the association between TG/C-HDL index and the activity of these enzymes. **Children and adolescents (7-14 years old) were recruited from the city of Balcarce, Buenos Aires, Argentina. Weight, height, body mass index (BMI), glucose, TG, total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), HDL-C plus CETP, Lp-PLA2 and PON 1 activities were determined. CETP correlated with TG ($r=0,53$; $p<0,01$), TC ($r=0,38$; $p<0,01$), HDL-C ($r=-0,45$; $p<0,01$), LDL-C ($r=0,59$; $p<0,01$), TG/HDL-C ($r=0,60$; $p<0,01$), and Lp-PLA2 activity ($r=0,26$; $p<0,05$). Lp-PLA2 correlated with TG ($r=0,15$; $p<0,05$), TC ($r=0,52$; $p<0,01$), LDL-C ($r=0,53$; $p<0,01$), and TG/HDL-C ($r=0,16$; $p<0,05$). Multiple lineal regression analyses showed TG/HDL-C index as an independent predictor of CETP ($r^2=0,29$; $\beta=0,49$; $p<0,01$) and Lp-PLA2 ($r^2=0,21$; $\beta=0,32$; $p<0,05$) activities. Twenty five children and adolescents presented TG/HDL-C $\geq 3,0$. These children and adolescents exhibited higher TG levels [164 (126-186) vs. 65 (48-72) mg/dl; $p<0,01$] and increased CETP [250 (232-263) vs. 223 (193-237) %/ml.min; $p<0,01$] and Lp-PLA2 [4,5 \pm 1,9 vs. 3,5 \pm 1,3; $p<0,05$] activities together with lower HDL-C [41 (37-49) vs. 52 (48-62) mg/dl; $p<0,01$] concentration compared to age-matched children and adolescents who presented TG/HDL-C $< 3,0$. Children and adolescents with TG/HDL-C $\geq 3,0$ presented a more atherogenic lipid profile and**

higher CETP and Lp-PLA2 activities, which would be indicative of lipoprotein metabolism alterations.

Keywords: triglyceride, HDL, CETP, Lp-PLA2.

Introducción

En las últimas décadas, se ha observado un incremento en la obesidad infantil a nivel mundial¹, el cual ha transformado a las complicaciones asociadas a la obesidad en una prioridad de la salud pública en poblaciones infantiles. Entre estas complicaciones se destaca la resistencia insulínica (RI). La asociación de la RI con el riesgo cardiometabólico se encuentra claramente establecida en niños². En este sentido, estudios previos han identificado al estado puberal y la etnia como los principales factores biológicos determinantes de la RI en niños³. Durante la pubertad, se observa una disminución en la sensibilidad a la insulina de hasta un 25 %, lo cual aumenta el riesgo de desarrollar RI. En lo que respecta a la etnia, se ha reportado que los niños caucásicos presentan mayor riesgo de desarrollar RI que los niños afroamericanos, asiáticos o hispanos. Como se mencionó anteriormente, la obesidad y la ganancia de peso en la niñez constituyen el principal factor antropométrico asociado a la presencia de RI. En particular la obesidad abdominal se encuentra íntimamente asociada al desarrollo de RI. De hecho, esta asociación sería independiente de la obesidad corporal total³. Sin embargo, cabe destacar, que en un estudio reciente⁴, se reportó que la importancia de los distintos factores de riesgo determinantes de RI sería diferente en los niños respecto a los adolescentes.

El índice de triglicéridos (TG) sobre el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) ha sido propuesto como un marcador del número de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas y de RI^{5,6}. La ventaja de este índice respecto a los marcadores tradicionales de RI o de insulinosensibilidad, como los índices *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) - RI o *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index* (Quicki), radica en su accesibilidad. Para el cálculo de estos últimos, es necesario contar con los valores de glucosa e insulina, siendo fundamental la trazabilidad del método para la medida de insulina. Sin embargo, para el cálculo del índice TG / C-HDL sólo se requiere de dos parámetros del perfil básico de lípidos y lipoproteínas medidos rutinariamente. Más aún, se ha reportado un valor de corte de 3,0 como aquel de mayor poder diagnóstico para RI⁵.

La RI se asocia a diversas alteraciones en el metabolismo, composición y función de las diferentes lipoproteínas⁷⁻⁸. Entre estas alteraciones, son de particular importancia aquellas que afectan la funcionalidad de las enzimas y proteínas asociadas a las diferentes fracciones lipoproteicas. Ejemplo de estas proteínas y enzimas son la proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP), la fosfolipasa A₂ asociada a lipoproteínas (Lp-PLA2) y la paraoxonasa 1 (PON1).

La CETP es una proteína de transporte de lípidos neu-

tros que en circulación se encuentra asociada a las HDL. Su función consiste en mediar el intercambio de ésteres de colesterol por TG entre las diferentes lipoproteínas, particularmente entre las HDL y las lipoproteínas con apoproteína (apo) B, a favor de un gradiente de concentración⁹. Incrementos en su actividad se asocian a un enriquecimiento de las partículas de HDL en TG, lo cual genera alteraciones en su composición y funcionalidad¹⁰. Estudios previos han reportado aumentos en la actividad de esta enzima en diferentes patologías que presentan RI, tales como obesidad, síndrome metabólico y diabetes tipo 2^{11,12}. Más aún, nuestro grupo de trabajo observó que los aumentos en la actividad de esta enzima en pacientes adultos con síndrome metabólico se asociaban de manera directa con el índice HOMA - RI¹³.

La Lp-PLA2 es una hidrolasa asociada en plasma mayoritariamente a las lipoproteínas de baja densidad (LDL)¹⁴. Esta enzima tiene como sustrato a los fosfolípidos oxidados presentes en las lipoproteínas, liberando como productos lisofosfolípidos, principalmente lisofosfatidilcolina, y ácidos grasos oxidados. Estos productos poseen una amplia variedad de efectos proaterogénicos y son capaces de dañar de manera directa a las células endoteliales¹⁴. De hecho, su actividad, considerada marcador de inflamación específica vascular, ha sido propuesta como un marcador novel de enfermedad cardiovascular. Estudios previos han mostrado incrementos en la actividad de esta enzima asociados a la presencia de resistencia insulínica^{15,16}.

La paraoxonasa 1 (PON1) es una enzima antioxidante asociada en plasma principalmente a las partículas de HDL¹⁷. Tradicionalmente, se ha propuesto a los fosfolípidos oxidados como su sustrato fisiológico. No obstante, a diferencia de lo que ocurre con Lp-PLA2, la actividad de PON 1 se considera antiaterogénica. De hecho, diversos estudios han reportado el rol atero-protector de PON 1. Esta diferencia sería el resultado de la localización preferencial de PON 1 en las partículas de HDL, donde productos como los fosfolípidos oxidados pueden ser neutralizados¹⁷.

Resulta de interés que diferentes autores hayan observado disminución de la actividad de PON 1 en condiciones de RI¹⁸⁻¹⁹.

Estudios anteriores han explorado el estatus de estas enzimas en poblaciones pediátricas. La actividad de CETP se reportó aumentada en distintos estudios llevados a cabo en niños con sobrepeso y obesos²⁰⁻²¹. Este aumento se asoció de manera directa al índice de masa corporal (IMC)²¹ y a los niveles basales de insulina²⁰. En lo que respecta a Lp-PLA2, en trabajos previos se ha observado un incremento de su actividad en niños obesos y adolescentes obesos^{22,23}. Más aún, este aumento se asociaría de manera directa a diversos indicadores antropométricos del peso corporal²². Por último, la actividad de PON 1 también se ha reportado

alterada en niños y adolescentes obesos y con RI en diversos estudios^{24,25}.

Según lo que se conoce, no existen trabajos que hayan explorado la asociación entre el índice TG / C-HDL y la actividad de las enzimas y proteínas asociadas a las diferentes lipoproteínas en niños y adolescentes

Materiales y Métodos

Población

Se reclutaron 148 niños y adolescentes de 7 a 14 años en diferentes escuelas del área rural de la ciudad de Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Protocolo de estudio y toma de muestra

Las muestras de sangre se tomaron de la vena antecubital de cada niño tras un ayuno de 12 horas. El suero y el plasma (EDTA 1 mg/ml) se separaron a partir de sangre venosa recolectada en tubos estériles (BD Vacutainer®). Las alícuotas de suero y plasma se guardaron a -80° C hasta su uso.

Características clínicas

Se llevó a cabo una extensiva anamnesis a todos los niños y adolescentes involucrados en el estudio. Se registraron el peso y la altura, y se calculó el índice de masa corporal (IMC) y se empleó el z-IMC para clasificar a los niños y adolescentes de acuerdo con el criterio propuesto por la Organización Mundial de la Salud²⁶. Se utilizará un valor de 3,0 como valor de corte para el índice TG / C-HDL según lo propuesto por McLaughlin y col.⁵.

Niveles plasmáticos de glucosa y perfil de lípidos y lipoproteínas

Los niveles plasmáticos de glucosa, TG, colesterol total y C-HDL se determinaron por métodos estandarizados (Roche, Basilea, Suiza) en un autoanализador COBAS C 501. Se evaluó el nivel de C-LDL como la diferencia entre el colesterol total y colesterol contenido en el sobrenadante obtenido después de la precipitación selectiva de LDL con 10 g/l polivinil sulfato en polietilenglicol (600 Da; 2,5 % P/V; pH = 6,7). Se calculó el colesterol no-HDL como la diferencia entre el colesterol total y el C-HDL.

Actividad de la proteína transportadora de colesterol esterificado

Se determinó la actividad de la CETP en muestras de suero siguiendo el método radiométrico previamente descrito con pequeñas modificaciones²⁷. Para ello, se evaluó la capacidad del suero para promover la transferencia de colesterol esterificado tritiado desde la fracción de HDL₃ marcada biosintéticamente (³H-CE-HDL₃) (NEN Life Science Products, Boston, EEUU) hacia las lipoproteínas con apo B presentes en el suero. Se incubaron las muestras séricas con ³H-CE-HDL₃ (50 umol/l de colesterol) e iodoacetato (1,5 mmol/l) en buffer TBS (pH = 7,4) durante 3 horas a 37° C. Luego de

la incubación, se separaron las lipoproteínas con apo B de las HDL mediante el método de precipitación selectiva utilizando ácido fosfotúngstico (0,44 mmol/l) en presencia de iones magnesio²⁸. Se midió la radioactividad en la mezcla de reacción y en el sobrenadante que contenía la fracción de HDL en un contador de centelleo líquido (Packard 210 TR; Packard Instruments, Meridians, CT). Se expresaron los resultados como porcentaje de colesterol esterificado tritiado transferido desde la fracción de HDL₃ hacia las lipoproteínas con apo B, por mililitro por hora.

Actividad de la fosfolipasa A₂ asociada a lipoproteínas

Se midió la actividad de la Lp-PLA2 empleando el ensayo radiométrico descrito por Blank y col.²⁹ con algunas modificaciones. Se llevó a cabo la extracción del acetato marcado liberado luego de la acción de la enzima sobre el sustrato lipídico mediante partición líquido-líquido y su cuantificación se realizó midiendo la radioactividad de la fase acuosa. Brevemente, la mezcla de reacción se encontraba compuesta de 50 ul de suero diluido 1/50 y de sustrato 10 ul 1-hexadecil-2-³H-acetil-glicero-3-fosfocolina (actividad específica 13.5 Ci/mmol), disueltos en un volumen total de 0,5 ml de buffer fosfato salino (PBS), pH = 7,4. Se sometió a los sustratos inicialmente disueltos en sus respectivos solventes a evaporación secuencial bajo corriente de N₂ y, posteriormente, se redisolvieron juntos en buffer PBS. Luego, se realizó un paso de sonicación consistente en 1 ciclo de 5 minutos. Se llevó a cabo la incubación de la mezcla de reacción a 37° C durante 5 minutos. Se detuvo la reacción enzimática ubicando los tubos en baño de hielo y adicionando rápidamente 1,5 ml de cloroformo agitando vigorosamente. Posteriormente, se agregaron 0,5 ml de solución saturada de NaHCO₃ y se agitó nuevamente. Se centrifugaron los tubos a baja velocidad durante 15 minutos, se recuperó la fase acuosa y se la lavó dos veces con cloroformo utilizando los pasos de agitación y centrifugación en ambos casos. Finalmente, se midió la radioactividad de la fase acuosa de cada muestra y de los blancos en un contador de centelleo líquido Packard. También, se midió la radioactividad del buffer sustrato.

Actividad de la Paraoxonasa 1

Se evaluó la enzima PON 1 en muestras de suero total empleando dos sustratos diferentes: paraoxón (actividad paraoxonasa propiamente dicha, PON) y fenilacetato (actividad arilesterasa, ARE). Ambas actividades fueron medidas siguiendo el método espectrofotométrico previamente descrito³⁰. A la brevedad, se determinó la actividad PON añadiendo 20 µl de suero a 2 ml de buffer TRIS / HCl (100 mmol/l, pH = 8,0) conteniendo 2 mmol/l CaCl₂, 1 mol/l NaCl y 2,6 mmol/l paraoxón (0, 0-dietil-0-p-nitrofenil-fosfato). Se monitoreó la tasa de generación de p-nitrofenol a una longitud de onda de 405 nm y a una temperatura de incubación de 25° C, en un espectrofotómetro Hitachi U-1100 (Hitachi Ltd, Tokio, Japón). Se registró el aumento de la absorbancia

Tabla I. Análisis de regresión lineal múltiple.

Variab independientes	Beta	r ²	p
CETP	0,49	0,29	< 0,01
Lp-PLA2	0,32	0,21	< 0,05

▶ CETP, proteína transportadora de ésteres de colesterol; Lp-PLA2, fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas.

en intervalos de 30 segundos durante un lapso de 5 minutos, luego de 30 segundos de un período de preincubación. Se calculó la actividad enzimática a partir del coeficiente de extinción molar ($17.000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Por otra parte, la actividad ARE se evaluó añadiendo 20 μl de suero diluido 1/20 a 2 ml de buffer TRIS / Acetato (50 mmol/l, pH = 7,8) conteniendo 20 mmol/l CaCl_2 y 4,4 mmol/l fenilacetato. Se monitoreó la tasa de generación de fenol a una longitud de onda de 270 nm y a una temperatura de incubación de 25°C, en un espectrofotómetro Hitachi U-1100 (Hitachi Ltd, Tokio, Japón). Se registró el aumento de absorbancia en intervalos de 30 segundos durante un lapso de 5 minutos, luego de 30 segundos de un período de preincubación. Se calculó la actividad enzimática a partir del coeficiente de extinción molar ($1.310 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Los resultados se expresaron como nmol/ml.min y $\mu\text{mol/ml.min}$ para las actividades PON y ARE respectivamente.

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se presentan como media y desvío estándar o mediana e intervalo intercuartil (percentiles 25 - 75) según su distribución observada. Se evaluó el supuesto de normalidad de la distribución poblacional de cada variable mediante el test de bondad de ajuste (test de Kolmogorov - Smirnov y test de Shapiro - Wilk). Para comparar las variables continuas se utilizaron el test t de Student (variables paramétricas) o el test U de Mann-Whitney (variables no paramétricas). Para evaluar la asociación entre las variables se emplearon los coeficientes de correlación de Pearson (variables paramétricas) y Spearman (variables no paramétricas). Por último, se llevaron a cabo análisis de regresión lineal múltiple. Todos los análisis estadísticos propuestos se realizaron utilizando los programas estadísticos Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina) y SPSS, versión 17.0 (Chicago, Illinois, EEUU).

Resultados

En la población total, la actividad de CETP correlacionó con TG ($r = 0,53$; $p < 0,01$), CT ($r = 0,38$; $p < 0,01$), C-HDL ($r = -0,45$; $p < 0,01$), C-LDL ($r = 0,59$; $p < 0,01$), CT / C-HDL ($r = 0,70$; $p < 0,01$), TG / C-HDL ($r = 0,60$; $p < 0,01$), C-LDL / C-HDL ($r = 0,69$; $p < 0,01$) y la actividad de Lp-PLA2 ($r = 0,26$; $p < 0,05$). Por su parte, Lp-PLA2 correlacionó con TG ($r = 0,15$; $p < 0,05$), CT ($r = 0,52$; $p < 0,01$), C-LDL ($r = 0,53$; $p < 0,01$), CT / C-HDL ($r = 0,44$; $p < 0,01$), TG / C-HDL ($r = 0,16$; $p < 0,05$) y C-LDL / C-HDL ($r = 0,45$; $p < 0,01$). No se observaron correlaciones significativas con la actividad PON, mientras que la actividad ARE sólo correlacionó con C-HDL. Por último, el análisis de regresión lineal múltiple mostró al índice TG / C-HDL como un predictor independiente de las actividades de CETP y Lp-PLA2 (Tabla I).

Veinticinco niños y adolescentes presentaron un índice TG / C-HDL $\geq 3,0$. Como era esperable, estos niños y adolescentes revelaron mayores niveles de TG y menor concentración de C-HDL cuando fueron comparados con niños y adolescentes que mostraban TG / C-HDL $< 3,0$ pareados por edad (Tabla 2). Más aún, los niños y adolescentes con TG / C-HDL $\geq 3,0$ también presentaron mayores actividades de CETP y de Lp-PLA2 (Tabla II). No se observaron diferencias significativas en las actividades PON y ARE.

Discusión

Los niños y adolescentes con TG / C-HDL $\geq 3,0$ presentaron un perfil más aterogénico, típico de la RI. Es sabido que la dislipemia de la RI se caracteriza por la presencia de la llamada tríada aterogénica, que consiste en la elevación de los niveles plasmáticos de TG y de apo B, y disminución de la concentración de C-HDL. Más aún, estos niños y adolescentes también mostraron mayores actividades de CETP y Lp-PLA2, componentes asociados al metabolismo y a la funcionalidad lipoproteica.

Múltiples estudios han revelado la asociación entre la RI y las alteraciones del metabolismo y la funcionalidad de las lipoproteínas. Entre dichos hallazgos, se destacan la presencia de partículas de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) pequeñas y ricas en colesterol³¹ y partículas de LDL pequeñas y densas, de gran potencial aterogénico³². Además, la RI también afectaría de manera directa e indirecta a las HDL. Estas lipoproteínas constituyen la única fracción lipoproteica con capacidad antiaterogénica, la cual además de la promoción del transporte inverso de colesterol, posee actividades antiinflamatoria, antioxidante, antiglicativa, y antitrombótica, entre otras¹⁷. En la RI también se ha reportado el efecto negativo que la glicación de la apo A-I (principal apolipoproteína de las HDL) tiene sobre la capacidad de las HDL para promover el eflujo de colesterol y sobre su capacidad antioxidante³¹.

El metabolismo y la funcionalidad lipoproteica dependen de la actividad de las diversas enzimas y proteínas asociadas. Tal como se mencionó anteriormente, entre estas enzimas y proteínas transportadoras de lípidos se encuentran

Tabla II. Comparación entre niños y adolescentes con TG / C-HDL \geq 3,0 vs. TG / HDL-C < 3,0.

	TG / C-HDL < 3,0 (n = 25)	TG / C-HDL \geq 3,0 (n = 25)
Edad (años)	11,7 \pm 1,7	11,5 \pm 1,9
IMC (Kg/m²)	19,8 \pm 4,0	20,1 \pm 4,4
Glucosa (mg/dl)	86,0 \pm 9,2	86,5 \pm 7,3
TG (mg/dl)*	64,8 (48,4 - 72,0)	163,6 (125,5 - 186,2)
CT (mg/dl)	155,4 \pm 41,8	159,4 \pm 37,0
C-HDL (mg/dl)*	52,1 (48,1 - 62,1)	41,1 (37,1 - 49,1)
C-LDL (mg/dl)	84,6 (40,3 - 109,9)	94,5 (73,8 - 123,0)
CT / C-HDL*	2,7 (2,1 - 3,4)	3,7 (2,8 - 5,3)
CETP (%/ml.min)**	223 (193 - 237)	250 (232 - 263)
Lp-PLA2 (umol/ml.h)*	3,5 \pm 1,3	4,5 \pm 1,9
PON (nmol/ml.min)	349 \pm 36	376 \pm 25
ARE (umol/ml.min)	129 \pm 16	124 \pm 15

► IMC, índice de masa corporal; TG, triglicéridos; CT, colesterol total; C-HDL, colesterol de lipoproteínas de alta densidad; C-LDL, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; CETP, proteína transportadora de ésteres de colesterol; Lp-PLA2, fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas; PON, paraoxonasa; ARE, arylesterasa. *p < 0,05; **p < 0,001.

la CETP, la Lp-PLA2 y la PON 1.

Bajo condiciones de hiperglicemia e hiperinsulinemia en el tejido hepático se activa la expresión de la proteína de unión al elemento regulador del esteroil (SREBP-1c) y de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP). Como resultado, se incrementa la síntesis hepática de VLDL, lo cual provoca un aumento en los niveles plasmáticos de TG, desencadenando un aumento de la actividad de CETP. El incremento en el intercambio de ésteres de colesterol y TG entre las HDL y las VLDL mediado por CETP da lugar a partículas de HDL enriquecidas en TG y partículas de VLDL cargadas de colesterol. De esta manera, la actividad de CETP tiene un rol central en las alteraciones lipoproteicas observadas en la RI [31]. Más aún, en un estudio previo llevado a cabo por nuestro grupo se observó una asociación directa entre el HOMA - RI y la actividad de CETP³³. Cabe destacar que en ese estudio se evaluaron sujetos adultos. De acuerdo con nuestro conocimiento, el presente trabajo es el primero en evaluar la asociación entre la actividad de CETP y un marcador de RI como el índice TG / C-HDL en niños y adolescentes.

Como se mencionó anteriormente, Lp-PLA2 y PON 1 son dos hidrolasas asociadas a las lipoproteínas. Ambas actúan sobre los fosfolípidos oxidados liberando lisofosfolípidos y ácidos grasos oxidados. En particular, la actividad de Lp-

PLA2 ha recibido gran atención y se la ha propuesto como un marcador novel de enfermedad cardiovascular. Estudios previos han mostrado una asociación entre la RI, evaluada a través del índice HOMA - RI, y la actividad de Lp-PLA2 en adultos³⁴. En concordancia, en el presente trabajo se observó una asociación significativa entre el índice TG / C-HDL y la actividad de Lp-PLA2 en niños y adolescentes. Cabe destacar que, en contradicción con estos hallazgos, en un trabajo previo llevado a cabo por nuestro grupo³⁵, no se observó asociación entre el índice HOMA - RI y la actividad de Lp-PLA2. Esto podría deberse a que en dicho trabajo sólo se incluyeron niños sanos. En este estudio no observó asociación entre la actividad de PON 1 y la presencia de RI, lo cual se encuentra en concordancia con un trabajo previo llevado en cabo en niños obesos³⁶.

A modo de conclusión, los niños y adolescentes con TG / C-HDL \geq 3,0 presentaron un perfil más aterogénico, típico de la RI, caracterizado por mayores niveles de TG y menor concentración de C-HDL. A su vez, estos niños y adolescentes también revelaron mayores actividades de CETP y Lp-PLA2, lo cual sería indicativo de alteraciones en el metabolismo lipoproteico y de la presencia de inflamación específica en el subendotelio. El índice TG / C-HDL podría ser un buen marcador de alteraciones en la actividad de proteínas y enzimas asociadas al metabolismo y la actividad lipoproteica.

Referencias Bibliográficas

1. <https://www.who.int/> [Internet]. World Health Organization; [citado 2019 Feb 14]. Disponible en: <https://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>.
2. Ten S, Maclaren N. Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2526-39.
3. Levy-Marchal C, Arslanian S, Cutfield W, Sinaiko A, Druet C, Marcovecchio ML, Chiarelli F; ESPE-LWPES-ISPAD-APPEA-APEG-SLEP-JSPE; Insulin Resistance in Children Consensus Conference Group. Insulin resistance in children: consensus, perspective, and future directions. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95:5189-98.
4. Lentferink YE, Elst MAJ, Knibbe CAJ, van derVorst MMJ. Predictors of Insulin Resistance in Children versus Adolescents with Obesity. *J Obes.* 2017;10:1-7.
5. McLaughlin T, Abbasi F, Cheal K, Chu J, Lamendola C, Reaven G. Use of metabolic markers to identify overweight individuals who are insulin resistant. *Ann InternMed.* 2003;139(10):802-9.
6. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, Lamendola C, Saad M, Waters D et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? *Am J Cardiol.* 2005;96(3):399-404.
7. Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RP. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin: cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(12):1051-69.
8. Garvey WT, Kwon S, Zheng D, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A et al. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes.* 2003;52(2):453-62.
9. Carvalho LS, Virginio VW, Panzoldo NB, Figueiredo VN, Santos SN, Modolo RG et al. Elevated CETP activity during the acute phase of myocardial infarction is independently associated with endothelial dysfunction and adverse clinical outcome. *Atherosclerosis.* 2014;237(2):777-83.
10. Jime N. The HDL Handbook. Biological Functions and Clinical Implications. Chapter 2: The Role of Cholesteryl-ester Transfer Protein (CETP) in HDL Metabolism. Academic Press. 2010; eBook ISBN: 9780124079243.
11. Dullaart RP, Sluiter WJ, Dikkeschei LD, Hoogenberg K, Van Tol A. Effect of adiposity on plasma lipid transfer protein activities: a possible link between insulin resistance and high density lipoprotein metabolism. *Eur J Clin Invest.* 1994;24(3):188-94.
12. Smaoui M, Hammami S, Attia N, Chaaba R, Abid N, Kilani N et al. Modulation of plasma cholesteryl-ester transfer protein activity by unsaturated fatty acids in Tunisian type 2 diabetic women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16(1):44-53.
13. Gómez Rosso L, Benítez MB, Fornari MC, Berardi V, Lynch S, Schreier L et al. Alterations in cell adhesion molecules and other biomarkers of cardiovascular disease in patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2008;199(2):415-23.
14. Tellis CC, Tselepis AD. Pathophysiological role and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A (Lp-PLA) bound to LDL and HDL. *Curr Pharm Des.* 2014;20(40):6256-69.
15. Persson M, Hedblad B, Nelson JJ, Berglund G. Elevated Lp-PLA2 levels add prognostic information to the metabolic syndrome on incidence of cardiovascular events among middle-aged nondiabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27(6):1411-16.
16. Rizos E, Tambaki AP, Gazi I, Tselepis AD, Elisaf M. Lipoprotein-associated PAF-acetylhydrolase activity in subjects with the metabolic syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005;72(3):203-9.
17. Brites F, Martin M, Guillas I, Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clin.* 2017;8:66-77.
18. Dursun P, Demirta E, Bayrak A, Yaralı H. Decreased serum paraoxonase 1 (PON1) activity: An additional risk factor for atherosclerotic heart disease in patients with PCOS? *HumReprod.* 2006;21 (1):104-8.
19. Fenkci IV, Serteser M, Fenkci S, Kose S. Paraoxonase levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med.* 2007;52(10):879-83.
20. Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Uchida N, Nakane T, Kodera K et al. Increased serum cholesteryl ester transfer protein in obese children. *Obes Res.* 2002;10(6):439-46.
21. McEneny J, Blair S, Woodside JV, Murray L, Boreham C, Young IS. High-density lipoprotein subfractions display proatherogenic properties in overweight and obese children. *Pediatr Res.* 2013;74(3):279-83.
22. Zlatohlávek L, Hubák JA, Vrblík M, Pejšová H, Lánská V, eška R. The Impact of Physical Activity and Dietary Measures on the Biochemical and Anthropometric Parameters in Obese Children. Is There Any Genetic Predisposition?. *Cent Eur J Public Health.* 2015;23:62-6.
23. Sakka S, Siahaidou T, Voyatzis C, Pervanidou P, Kaminoti C, Lazopoulou N et al. Elevated circulating levels of lipoprotein-associated phospholipase A2 in obese children. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(7):1119-25.
24. Agirbasli M, Tanrikulu A, Erkus E, Azizy M, Sevim BA, Kaya Z et al. Serum paraoxonase-1 activity in children: the effects of obesity and insulin resistance. *Acta Cardiol.* 2014;69(6):679-85.
25. Adhe-Rojekar A, Mogarekar MR, Rojekar MV. Paraoxonase activity in metabolic syndrome in children and adolescents. *Caspian J InternMed.* 2018;9(2):116-120.
26. https://www.who.int/childgrowth/standards/bmi_for_age/en/
27. Lagrost L, Gandjini H, Athias A, Guyard-Dangremont V,

- Lallemant C, Gambert P. Influence of plasma cholesteryl ester transfer activity on the LDL and HDL distribution profiles in normolipidemic subjects. *Arterioscler. Thromb.* 1993;13(6):815-25.
28. Warnik G, Mayfield C, Benderson J, Chen J, Albers J. HDL cholesterol quantitation by phosphotungstate-Mg²⁺ and by dextran sulfate-Mn²⁺-polyethylene glycol precipitation, both with enzymic cholesterol assay compared with the lipid research method. *Am J Clin Pathol.* 1982;78(5):718-23.
29. Blank ML, Hall MN, Cress EA, Snyder F. Inactivation of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine by a plasma acetylhydrolase: higher activities in hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983;113(2):666-71.
30. Furlong C, Richter R, Seidel S, Costa L, Motulsky A. Spectrophotometric assays for the enzymatic hydrolysis of the active metabolites of chlorpyrifos and parathion by plasma paraoxonase / arylesterase. *Anal Biochem.* 1989;80(2):242-7.
31. Constantinou C, Karavia EA, Xepapadaki E, Petropoulou PI, Papakosta E, Karavyraki M et al. Advances in high-density lipoprotein physiology: surprises, overturns, and promises. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016;310(1):E1-E14.
32. Gerber PA, Nikolic D, Rizzo M. Small, dense LDL: an update. *Curr Opin Cardiol.* 2017;32(4):454-9.
33. Coniglio RI, Meroño T, Montiel H, Malaspina MM, Salgueiro AM, Otero JC et al. HOMA-IR and non-HDL-C as predictors of high cholesteryl ester transfer protein activity in patients at risk for type 2 diabetes. *Clin Biochem.* 2012;45(7-8):566-70.
34. Nelson TL, Biggs ML, Kizer JR, Cushman M, Hokanson JE, Furberg CD et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) and future risk of type 2 diabetes: results from the Cardiovascular Health Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(5):1695-701.
35. Hirschler V1, Meroño T, Maccallini G, Gomez Rosso L, Aranda C, Brites F. Association of lipoprotein-associated phospholipase A activity with components of the metabolic syndrome in apparently healthy boys. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2011;9(2):78-83.
36. Krzystek-Korpacka M, Patryn E, Hotowy K, Czapińska E, Majda J, Kustrzeba-Wójcicka I et al. Paraoxonase (PON)-1 activity in overweight and obese children and adolescents: association with obesity-related inflammation and oxidative stress. *Adv Clin ExpMed.* 2013;22(2):229-36.