

**INFLUENCIA DE LA GRASA DE LA DIETA
SOBRE LAS MODIFICACIONES
POSTPRANDIALES EN LA HEMOSTASIA**

Trabajo presentado por Begoña Cortés Rodríguez,
Licenciada en Medicina, para optar al grado de Doctora

Fdo: Begoña Cortés Rodríguez
Córdoba, 4 de Junio de 2009

TITULO: *Influencia de la grasa de la dieta sobre las modificaciones postprandiales en la hemostasia*

AUTOR: *BEGOÑA CORTES RODRIGUEZ*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2010
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

ISBN-13: 978-84-7801-967-0

DON FRANCISCO PÉREZ JIMÉNEZ, CATEDRÁTICO DE
PATOLOGÍA Y CLÍNICA MÉDICA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA,

DON JOSÉ LÓPEZ MIRANDA, DOCTOR EN MEDICINA,
PROFESOR TITULAR DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE
CÓRDOBA,

HACEMOS CONSTAR:

Que el trabajo titulado: "Influencia de la grasa de la
dieta sobre las modificaciones postprandiales en la
hemostasia" ha sido realizado por Doña Begoña Cortés
Rodríguez bajo nuestra dirección, en la Unidad de
Investigación del Hospital Universitario Reina Sofía.

A nuestro juicio reúne los méritos suficientes para ser
aceptado como tesis doctoral ante el tribunal correspondiente
en la Facultad de Medicina de la Universidad de Córdoba.

Lo que firmamos en Córdoba, a 4 de Junio de dos
mil nueve

Fdo: Dr. Pérez Jiménez

Fdo: Dr. J. López Miranda

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
<u>RESUMEN</u>	5
<u>INTRODUCCIÓN</u>	9
I.- TROMBOSIS Y ARTERIOSCLEROSIS	12
1. <u>EL ENDOTELIO</u>	13
1.1 EL ENDOTELIO SANO.....	13
1.2 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL	15
2. <u>BIOLOGÍA DE LA PLACA DE ATEROMA</u>	21
2.1 EVOLUCIÓN DE LA LESIÓN ATEROMATOSA	21
2.2 VULNERABILIDAD DE LA PLACA DE ATEROMA ...	22
2.3 ATEROTROMBOSIS	23
3. <u>HEMOSTASIA Y ATEROSCLEROSIS</u>	26
3.1 AGREGACIÓN PLAQUETARIA.....	27
3.2 ACTIVACIÓN DEL SISTEMA DE COAGULACIÓN ..	28
II.- EFECTO DE LA GRASA DE LA DIETA SOBRE LA HEMOSTASIA	31
1. <u>HEMOSTASIA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR</u>	31
1.1. COAGULACIÓN Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR..	31
1.2. FIBRINOLISIS Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ...	39
2. <u>GRASA DE LA DIETA Y FACTORES DE COAGULACIÓN</u>	46
2.1. EFECTO CRÓNICO DE LA DIETA SOBRE EL FACTOR VII BASAL	47
2.2 GRASA DE LA DIETA Y FIBRINOLISIS	55
2.2. GRASA DE LA DIETA Y FUNCIÓN PLAQUETARIA	62
3. <u>INGESTA AGUDA DE GRASA Y HEMOSTASIA</u>	66
3.1. METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS RICAS EN TRIGLICÉRIDOS POSTPRANDIALES	67
3.2. RELACIÓN ENTRE LIPEMIA POSTPRANDIAL Y ARTERIOSCLEROSIS	70
3.3. LIPEMIA POSTPRANDIAL Y HEMOSTASIA	79
<u>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u>	95
<u>DISEÑO Y METODOLOGÍA</u>	99

<u>RESULTADOS</u>	111
1. CARACTERÍSTICAS BASALES.....	113
2. ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS PLASMÁTICOS EN EL PERÍODO DE INTERVENCIÓN DIETÉTICA Y TRAS EL PERÍODO POSTPRANDIAL.....	114
3. RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y PARÁMETROS DE HEMOSTASIA.....	116
4. RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y BIODISPONIBILIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO	127
5. RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y LIPOPERÓXIDOS.....	129
6. RELACIÓN ENTRE LA DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y LIPEMIA POSTPRANDIAL.....	131
7. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN.....	132
8. REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE.....	135
<u>DISCUSIÓN</u>	137
<u>CONCLUSIONES</u>	155
<u>ABREVIATURAS</u>	159
<u>ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS</u>	165

RESUMEN

Introducción: La hemostasia es el resultado de un complejo equilibrio entre coagulación y fibrinólisis. La influencia que sobre este equilibrio tienen los distintos modelos dietéticos no está aún establecida.

Objetivo: Comparar los efectos de la ingesta crónica de distintos modelos dietéticos sobre los cambios postprandiales en la hemostasia

Diseño y Metodología: Siguiendo un diseño randomizado cruzado, 20 hombres jóvenes y sanos consumieron durante 28 días sendas dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados (AGM), ácidos grasos saturados (AGS) y carbohidratos con ácidos grasos n-3 (n-3). Al finalizar cada período se midieron, tanto en estado basal como postprandial, factores de la coagulación (actividad del factor VII coagulante, FVIIc), fibrinólisis (inhibidor del activador del plasminógeno 1, PAI-1; activador del plasminógeno tisular, tPA; dímero D) y agregación plaquetaria (tromboxano B2). Las comidas empleadas para las determinaciones postprandiales estaban compuestas por aceite de oliva virgen, nueces y mantequilla, para las dietas de AGM, n-3 y AGS, respectivamente.

Resultados: No existieron diferencias en las variables analizadas al finalizar cada período de intervención dietética. Tras la ingesta de las 3 comidas, se observó un incremento de tromboxano B2 y dímero D y una reducción del tPA, independientemente de la dieta consumida. Las comidas de AGM o n-3 redujeron las concentraciones postprandiales del FVIIc, aunque la reducción fue mayor tras la comida enriquecida con AGM. La concentración del PAI-1 fue mayor después de la comida rica en AGS que tras las otras dos comidas.

Conclusiones: La ingesta aguda de una comida grasa induce un estado protrombótico durante el postprandio independientemente del tipo de grasa consumida. Sin embargo, el consumo de una dieta rica en AGS crea un ambiente más protrombótico que el provocado por los modelos ricos en AGM o n-3 como fuentes de ácidos grasos.

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es un complejo sistema homeostático que garantiza la integridad del sistema vascular. El equilibrio de los elementos que la integran es imprescindible para evitar la aparición de enfermedades debidas al defecto de coagulación (hemorragias) o a su exceso (trombosis). Entre los numerosos factores que pueden afectar a la hemostasia, se pueden diferenciar algunos de carácter intrínseco (factores genéticos, el sexo) y otros de extrínsecos (ambientales). Entre estos últimos, la dieta es uno de los que más influyen sobre la hemostasia. Así, en la población occidental actual, debido al patrón dietético generalizado, predomina el estado protrombótico. En la búsqueda de dietas más saludables, el interés se ha dirigido hacia la Dieta Mediterránea y las enriquecidas en n-3, ya que su consumo ha demostrado una menor mortalidad cardiovascular. En la investigación de las causas subyacentes a este efecto protector, las modificaciones sobre la hemostasia asociadas a la adherencia a estos tipos de dieta constituyen un interesante campo de estudio. Dicho efecto puede evaluarse tanto en la ingesta crónica como en comidas aisladas, estudiando el estado postprandial. Se ha demostrado que, en las horas siguientes a una ingesta grasa, existen cambios muy importantes en la hemostasia que promueven el estado protrombótico^{1,2,3,4,5,6,7,8}. Sin embargo,

¹ Perez-Jimenez F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 2005;35(7):421-4

² Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr* 2004;79(6):969-73

³ Mitropoulos KA, Esnouf MP. The autoactivation of factor XII in the presence of long-chain saturated fatty acids-a comparison with the potency of sulphatides and dextran sulphate. *Thromb Haemost* 1991;66(4):446-52

⁴ Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145(2):351-8

aunque parece que las grasas saturadas promueven un perfil más perjudicial, la influencia de los distintos patrones dietéticos en los efectos tanto agudos como crónicos sobre la hemostasia no está aún establecida^{9,10}.

I.- TROMBOSIS Y ARTERIOSCLEROSIS

La arteriosclerosis y sus complicaciones trombóticas son la principal causa de morbimortalidad del mundo industrializado¹¹. Es un proceso complejo que presenta las características típicas de una enfermedad inflamatoria crónica¹². Se caracteriza por la aparición de placas de ateroma, constituidas por grasa, tejido fibroso y células. La trombosis aparece sobre la placa, generalmente como consecuencia de su rotura, contribuyendo a su crecimiento y desencadenando la clínica aguda. Las lesiones arterioscleróticas tienden a desarrollarse en las arterias aorta, carótidas, ilio-femorales y coronarias, y pueden originar la isquemia de los territorios distales a ellas. Las lesiones se

⁵ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1125-32

⁶ Sanders TA, Berry SE, Miller GJ. Influence of triacylglycerol structure on the postprandial response of factor VII to stearic acid-rich fats. *Am J Clin Nutr* 2003;77(4):777-8

⁷ Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002;163(2):385-98

⁸ Junker R, Kratz M, Neufeld M, et al. Effects of diets containing olive oil, sunflower oil, or rapeseed oil on the hemostatic system. *Thromb Haemost* 2001;85(2):280-6

⁹ Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P, Marin C, Moreno JA, Gomez P, Perez-Jimenez F. Postprandial lipoprotein metabolism, genes and risk of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006;17(2):132-8

¹⁰ Poppitt S. Postprandial lipaemia, haemostasis, inflammatory response and other emerging risk factors for cardiovascular disease: the influence of fatty meals. *Curr Nutr Food Sci* 2005;1:23-34

¹¹ Making a difference. The World Health Report 1999. *Health Millions* 1999; 25(4):3-5

¹² Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-26

inician de modo muy temprano, y se desarrollan a lo largo de la vida¹³.

1.- EL ENDOTELIO

1.1. EL ENDOTELIO SANO

Las células endoteliales forman una monocapa que recubre el interior de la pared vascular en contacto directo con la sangre y constituye un auténtico órgano, que ha adquirido una gran relevancia en las últimas décadas para comprender y prevenir la arteriosclerosis. Hoy día, esta enfermedad es considerada de naturaleza inflamatoria, puesta en marcha por la lesión del endotelio y la subsiguiente alteración de sus funciones¹³.

El endotelio sano es el modulador de funciones tales como el tono vasomotor, el equilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis, la proliferación celular, la quimio-atracción y la adherencia de elementos celulares sanguíneos, entre otros^{14,15}. La superficie del endotelio es antitrombótica gracias a la presencia de moléculas heparinoides y la producción de prostaciclina (PG-I₂). Ésta se sintetiza a partir de los fosfolípidos de membrana por la vía del ácido araquidónico y tiene, además, un potente efecto vasodilatador. No obstante, el óxido nítrico (NO)¹⁶ es el vasodilatador de origen endotelial más potente. Está producido a partir del aminoácido no

¹³ Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA* 1999;281(8):727-35

¹⁴ Kinlay S, Libby P, Ganz P. Endothelial function and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol* 2001;12(4):383-9

¹⁵ Pearson JD. Normal endothelial cell function. *Lupus* 2000;9(3):183-8

¹⁶ Kelm M, Feelisch M, Deussen A, Strauer BE, Schrader J. Release of endothelium derived nitric oxide in relation to pressure and flow. *Cardiovasc Res* 1991;25:831-6

esencial L-arginina por el enzima sintasa de NO. En presencia de guanilato ciclasa, aumenta los niveles de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) celular, provocando la relajación vascular mediante el descenso del calcio intracelular y la fosforilación en cadena de los filamentos de miosina¹⁷. El NO es rápidamente oxidado a nitrito y, posteriormente a nitrato, que se excreta por la orina. Además, el NO tiene capacidad antitrombótica por su actividad antiagregante plaquetaria¹⁸, previene la adhesión leucocitaria a la pared arterial y bloquea la proliferación de células musculares lisas inducida por distintos mitógenos¹⁹.

Por otra parte, en la síntesis de NO se pueden generar radicales libres. Éstos son moléculas inestables a las que falta un electrón en su capa externa, lo que les hace altamente reactivas, originando reacciones en cadena que dañan a las células y pueden iniciar procesos patológicos²⁰, a menos que sean neutralizadas por los sistemas antioxidantes. La propia molécula de oxígeno es un radical libre, constituyendo una de las paradojas de los organismos vivos superiores, que no pueden existir sin el oxígeno, pero, a su vez, éste es peligroso para su supervivencia. En un ambiente aeróbico se produce el peróxido de hidrógeno, el anión superóxido y el radical hidroxilo, responsables de la toxicidad del oxígeno. El endotelio es una fuente importante de producción de

¹⁷ Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway, cellular transduction and immunological roles. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 1993;28: 97-9

¹⁸ Yao SK, Akhtar S, Scott-Burden T, et al. Endogenous and exogenous nitric oxide protect against intracoronary thrombosis and reocclusion after thrombolysis. *Circulation* 1995;92(4):1005-10

¹⁹ Koglin J, Glysing-Jensen T, Mudgett JS, Russell ME. Exacerbated transplant arteriosclerosis in inducible nitric oxide-deficient mice. *Circulation* 1998;97:2059-65

²⁰ Porasuphatana S, Tsai P, Rosen GM. The generation of free radicals by nitric oxide synthase. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 134(3):281-9

superóxido. Para poder sobrevivir en este medio, se generan compuestos y enzimas antioxidantes y reparadoras del daño celular: ceruloplasmina, albúmina, transferrina, ferritina, mioglobina, etc. En las situaciones de estrés oxidativo se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres, que reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, hidratos de carbono (HC), ácido desoxirribonucleico (DNA) y los componentes de la matriz extracelular, pudiendo desencadenar un daño irreversible y la muerte celular.

Varios agentes vasoconstrictores actúan sobre el endotelio, como la endotelina-1²¹ y la angiotensina II²², que, además, poseen actividad procoagulante y efecto mitógeno sobre las células musculares lisas. En el endotelio sano existe un equilibrio entre estos sistemas. Su alteración, denominada disfunción endotelial, dará lugar al inicio y evolución de la arteriosclerosis²³.

1.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

La hipótesis de que la disfunción endotelial es la causa iniciadora de la lesión arteriosclerótica ha sustituido a la basada en el daño y denudación del endotelio^{24,25}. La disfunción endotelial es consecuencia de la respuesta compensatoria a las agresiones sufridas por los diferentes factores aterogénicos (flujo sanguíneo turbulento, hipertensión

²¹ Iglarz M, Schiffrin EL. Role of endothelin-1 in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2003;5(2):144-8

²² Luscher TF. Endothelial dysfunction: the role and impact of the renin-angiotensin system. *Heart* 2000;84 Suppl 1:20-2

²³ Rees DD, Palmer RM, Hodson HF, Moncada S. A specific inhibitor of nitric oxide formation from L-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br J Pharmacol* 1989;96:418-24

²⁴ Ross R, Glomset JS. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1976;295:369-77

²⁵ Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26

arterial, diabetes mellitus, dislipemia, tóxicos como el tabaco, microorganismos como la *Chlamydia pneumoniae*, inmunocomplejos..²⁶). Su acción, modulada por la carga genética del individuo, produce el daño endotelial que conduce a la disfunción y apoptosis o muerte celular²⁷.

Independientemente del agente nocivo el endotelio responderá en primer lugar con un aumento de permeabilidad y la producción de moléculas de adhesión vascular²⁸.

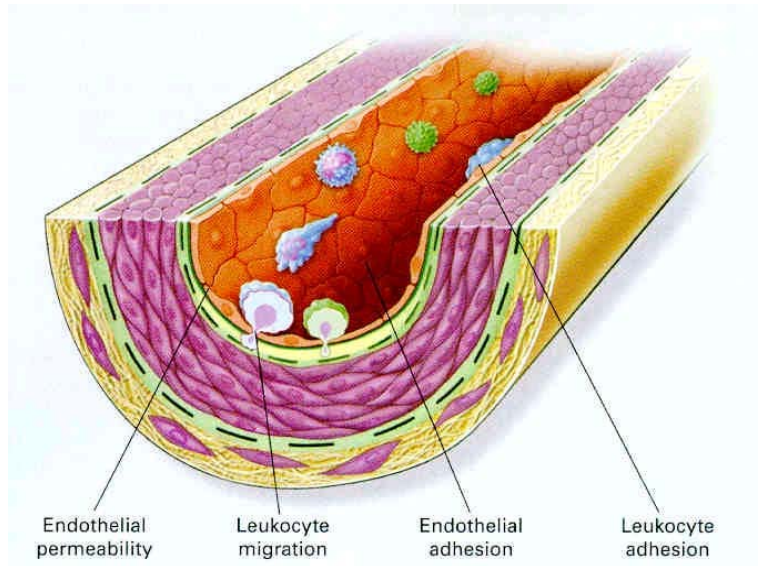


Figura 1: Disfunción endotelial

Extraída de: Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. N Engl J Med 1999;340:115-26

El aumento de la permeabilidad favorece la entrada de moléculas, especialmente lipoproteínas, hacia la íntima

²⁶ Gimbrone MA, Nagel T, Topper JN. Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. J Clin Invest 1997;100(11 Suppl):S61-5

²⁷ Shi W, Haberland ME, Jien ML, Shih DM, Lusis AJ. Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. Circulation 2000;102:75-81

²⁸ Johnson-Tidey RR, McGregor JL, Taylor PR, Poston RN. Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule-1. Am J Pathol 1994;144:952-61

arterial²⁹. Así, las lipoproteínas, en particular las de baja densidad (LDL), pueden quedar retenidas en la íntima, debido a la afinidad de determinados epitopos de la fracción proteica de la LDL (apoproteína B) por los proteoglicanos de la matriz extracelular subintimal³⁰. La retención de las partículas de LDL resulta clave en la aterogénesis, como se ha observado en ratones transgénicos sin dominio de unión de la apoproteína B a los proteoglicanos, por lo que la LDL no queda retenida en la pared arterial³¹. Estos ratones se muestran muy resistentes al desarrollo de arteriosclerosis, lo que ha reforzado la hipótesis de que ésta se produce como respuesta a la retención de LDL en la íntima³².

Por otra parte, las moléculas de adhesión³³ (molécula de adhesión intercelular, ICAM-1; molécula de adhesión vascular 1, VCAM-1; molécula de adhesión leucocito-endotelial, ELAM) actúan simultáneamente con quimiocinas como la proteína quimiotáctica para monocitos (MCP-1) y las interleucinas (IL) 1, 2 y 8 que favorecen el reclutamiento de plaquetas y leucocitos de la circulación sanguínea³⁴, mientras que las moléculas de adhesión aumentan la cantidad de ellos que se adhieren a la superficie endotelial. Estos leucocitos atraviesan el endotelio y penetran en la íntima arterial, donde captan LDL y lo degradan, evitando su oxidación. Sin

²⁹ Nordestgaard BG, Nielsen LB. Atherosclerosis and arterial influx of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1994;5(4):252-7

³⁰ Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(5):551-61

³¹ Boren J, Olin K, Lee I, Chait A, Wight TN, Innerarity TL. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *J Clin Invest* 1998;101:2658-64

³² Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidol* 1998;9(5):471-4

³³ Malik AB, Lo SK. Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation. *Pharmacol Rev* 1996;48(2):213-29

³⁴ Terkeltaub R, Boisvert WA, Curtiss LK. Chemokines and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998;9(5):397-405

embargo, si la cantidad de LDL atrapada en la íntima excede la capacidad de degradación de los monocitos, éstos pueden quedar atrapados en la zona de lesión, diferenciarse en macrófagos y contribuir a la respuesta inflamatoria³⁵.

La LDL circulante está protegida de la oxidación por la elevada concentración de moléculas antioxidantes del plasma³⁶. Pero cuando la LDL queda retenida en la íntima se encuentra rodeada por un ambiente altamente prooxidante, con gran cantidad de radicales libres producidos por las células del entorno. Además, la susceptibilidad a la oxidación de la LDL se encuentra aumentada debido a la asociación con proteoglicanos³⁷. Así, la LDL comienza a modificarse y se transforma en una partícula con gran capacidad proinflamatoria, que induce la producción por parte de células endoteliales y macrófagos de moléculas biológicamente activas. A medida que evoluciona la lesión endotelial, la LDL sufre más transformaciones, originando LDL oxidada (LDLox)³⁸, modificada enzimáticamente³⁹, agregada⁴⁰ y complejos LDL-proteoglicano³⁷. En cuanto a las lipoproteínas de alta densidad (HDL), su misión defensiva es extraer el

³⁵ Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340: 115-26

³⁶ Steinberg D, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 1997;95(4):1062-71

³⁷ Hurt-Camejo E, Olsson U, Wiklund O, Bondjers G, Camejo G. Cellular consequences of the association of apoB lipoproteins with proteoglycans. Potential contribution to atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(6):1011-7

³⁸ Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O. Oxidants and antioxidants in atherogenesis. An appraisal. *J Lipid Res* 1999;40:2143-57

³⁹ May AE, Schmidt R, Bulbul BO, et al. Plasminogen and matrix metalloproteinase activation by enzymatically modified low density lipoproteins in monocytes and smooth muscle cells. *Thromb Haemost* 2005;93(4):710-5

⁴⁰ Oorni K, Pentikainen MO, Ala-Korpela M, Kovanen PT. Aggregation, fusion, and vesicle formation of modified low density lipoprotein particles: molecular mechanisms and effects on matrix interactions. *J Lipid Res* 2000;41:1703-14

exceso de LDL de la pared arterial, pero con frecuencia este mecanismo se ve desbordado⁴¹.

Los macrófagos infiltrados en la íntima producen citocinas como la IL1 y el factor de necrosis tumoral α (TNF α) que favorecen la producción de más moléculas de adhesión y quimiocinas⁴², potenciando el reclutamiento de leucocitos hacia el interior de la pared arterial. A su vez, los propios monocitos y células endoteliales sintetizan factores de estimulación de colonias de monocitos y granulocitos (M-CSF y GM-CSF) que favorecen la transformación de los monocitos en macrófagos⁴³. Éstos expresan receptores tipo "scavengers" (basureros), a través de los que captan LDL modificadas, almacenan gran cantidad de lípidos intracelulares y se transforman en células espumosas⁴⁴. Estas células acaban muriendo por mecanismos apoptóticos, liberando su contenido en enzimas proteolíticas y LDLox, tóxicas para el endotelio^{45,46}.

El sistema del NO también se ve alterado por la acción de los factores aterogénicos, que se desequilibra a favor de la endotelina-1, con efecto vasoconstrictor y estimulador de la proliferación y migración de las células musculares lisas⁴⁷. Las distintas células implicadas en la aterogénesis sintetizan

⁴¹ O'Connell BJ, Genest J Jr. High-density lipoproteins and endothelial function. *Circulation* 2001;104(16):1978-83

⁴² Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J* 1992;6(8):2591-9

⁴³ Clinton SK, Underwood R, Hayes L, Sherman ML, Kufe DW, Libby P. Macrophage colony-stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol* 1992;140:301-16

⁴⁴ Brown MS, Goldstein JL. Atherosclerosis. Scavenging for receptors. *Nature* 1990;343(6258):508-9

⁴⁵ Farouque HM, Meredith IT. The assessment of endothelial function in humans. *Coron Artery Dis* 2001;12(6):445-54

⁴⁶ Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997;272(34):20963-6

⁴⁷ Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *Br Heart J* 1993;69(1 Suppl):S30-7

diversos factores de crecimiento que estimulan la proliferación de las células musculares lisas de la capa media arterial⁴⁸. Éstas se desplazan hacia la íntima, donde proliferan, producen moléculas proinflamatorias y captan LDL modificada, transformándose en células espumosas. La proliferación y migración de las células musculares lisas induce la evolución de la lesión ateromatosa hacia la lesión fibroproliferativa, donde son las principales precursoras de células espumosas. Estas células ya no tienen el fenotipo de las células musculares lisas (denominado contráctil), sino que adquieren lo que se llama fenotipo sintético, debido a que producen una gran cantidad de matriz extracelular, perdiendo su capacidad vasodilatadora⁴⁸.

Existen numerosas evidencias científicas de la importancia de todos estos mecanismos en el desarrollo de la arteriosclerosis, proporcionadas fundamentalmente por estudios en los que el bloqueo de los mismos afecta a la aparición y desarrollo de las lesiones arterioscleróticas. En modelos animales, tanto al bloquear directamente las moléculas de adhesión, como al administrar altas dosis de antioxidantes, se disminuye la adhesión de monocitos a la pared endotelial y su engrosamiento, reduciendo la lesión arteriosclerótica^{49,50}.

⁴⁸ Owens GK. Control of hypertrophic versus hyperplastic growth of vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1989;257:1755-65

⁴⁹ Martin A, Foxall T, Blumberg JB, Meydani M. Vitamin E inhibits low-density lipoprotein-induced adhesion of monocytes to human aortic endothelial cells in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:429-36

⁵⁰ Adams MR, Jessup W, Hailstones D, Celermajer DS. L-arginine reduces human monocyte adhesion to vascular endothelium and endothelial expression of cell adhesion molecules. *Circulation* 1997;95:662-8

2.- BIOLOGÍA DE LA PLACA DE ATEROMA

2.1. EVOLUCIÓN DE LA LESIÓN ATEROMATOSA

Aunque la lesión ateromatosa o arteriosclerótica se desarrolla evolutivamente de manera continua, se han diferenciado varias fases, para una comprensión más clara del proceso. La clasificación más extendida es la postulada por Stary y cols.^{51,52} (Tabla 1).

El acúmulo de LDLox en los macrófagos, transformados en células espumosas, produce la muerte celular, por lo que los cristales de colesterol acumulados en su interior, las enzimas proteolíticas de los lisosomas macrofágicos, los restos intracelulares y otros elementos se vierten en el medio, provocando una escalada de lesión endotelial, destrucción tisular, reclutamiento celular, liberación de mediadores...Todo esto incrementa el proceso inflamatorio de la pared vascular⁵³.

La lesión inicial, la estría grasa, puede regresar o evolucionar, progresando hacia las placas de ateroma maduras. Esta progresión tiene lugar por el aumento de la infiltración celular y el aumento del depósito de lipoproteínas, que se va organizando en un núcleo lipídico por debajo de la capa celular⁵⁴.

⁵¹ Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15(9):1512-31

⁵² Stary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1994;89(5):2462-78

⁵³ Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362(6423):801-9

⁵⁴ Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med* 1992;326(4):242-50

<i>Lesión</i>	<i>Histología</i>	<i>Mecanismo de crecimiento</i>	<i>Inicio</i>	<i>Clínica</i>
Inicial	C. Espumosas	Acúmulo de lípidos	1 ^a década	NO
Estría grasa	↑ C. Espumosas Lípidos intracels		3 ^a década	
Intermedia	↑Lípidos extracels			NO/SÍ
Ateroma	Núcleo Lípidos extracels	Proliferación miocitos y colágeno		
Fibroateroma	Núcleo Lípidos+ capa fibrótica Calcificación		4 ^a década	
Complicada	Denudación endotelial, hemorragia, trombo	Trombosis, hematoma		SÍ

Tabla 1: Clasificación de las lesiones arterioscleróticas propuesta por *Stary y cols.*⁵⁵. C. Espumosas= células espumosas; ↑= aumento; intracels= intracelulares; extracels= extracelulares

2.2. VULNERABILIDAD DE LA PLACA DE ATEROMA

La aterogénesis y la progresión de la lesión aterosclerótica no son lineales ni predecibles^{56,57}. Se ha descrito que más del 75% de los infartos agudos de miocardio (IAM) se producen en áreas que tienen una estenosis pequeña en un angiograma previo⁵⁸.

La placa de ateroma puede contener un gran núcleo lipídico con un importante componente inflamatorio y bajo

⁵⁵ Ordoñez-Llanos J, Sánchez-Quesada J. Arteriosclerosis: una enfermedad inflamatoria. In: L M, F P-J, eds. Salud cardiovascular y dieta mediterránea. Madrid: Draft;2001:2

⁵⁶ Ambrose JA, Winters SL, Arora RR, et al. Angiographic evolution of coronary artery morphology in unstable angina. J Am Coll Cardiol 1986;7(3):472-8

⁵⁷ Moise A, Clement B, Saltiel J. Clinical and angiographic correlates and prognostic significance of the coronary extent score. Am J Cardiol 1988;61(15):1255-9

⁵⁸ Giroud D, Li JM, Urban P, Meier B, Rutishauer W. Relation of the site of acute myocardial infarction to the most severe coronary arterial stenosis at prior angiography. Am J Cardiol 1992;69(8):729-32

contenido en células musculares lisas, con una cápsula fibrosa muy delgada, lo que le da una consistencia pastosa y una mayor vulnerabilidad e inestabilidad⁵⁹. Si, por el contrario, predomina la proliferación de células musculares lisas y fibroblastos, adquiere una consistencia más dura y mayor estabilidad. Las placas varían en composición y consistencia incluso en una misma arteria y el riesgo de una persona de desarrollar un evento isquémico coronario agudo depende del número de placas vulnerables que presenta en el árbol coronario. El núcleo ateromatoso es el componente más trombogénico de la placa arteriosclerótica y la ruptura de la cápsula fibrosa resulta de la interacción entre el factor tisular (FT) que está contenida en este núcleo ateromatoso con la sangre circulante, produciendo una respuesta trombótica de deposición plaquetaria y posible oclusión trombótica del vaso^{60,61}. Por tanto, las placas vulnerables, aunque no sean estenóticas, son las de mayor riesgo, ya que el IAM o la isquemia aguda periférica puede resultar de una oclusión súbita provocada por la ruptura de estas placas.

2.3. ATEROTROMBOSIS

La erosión de la superficie endotelial expone el colágeno y los componentes subendoteliales a la sangre, estimulando el reconocimiento de ligandos que inician la formación del trombo^{62,63}. Pequeñas zonas de erosión

⁵⁹ Falk E. Coronary thrombosis: pathogenesis and clinical manifestations. *Am J Cardiol* 1991;68(7):28B-35B

⁶⁰ Fernandez-Ortiz A, Badimon JJ, Falk E, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994;23(7):1562-9

⁶¹ Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997;95(3):594-9

⁶² Badimon L, Badimon JJ. Mechanisms of arterial thrombosis in nonparallel streamlines: platelet thrombi grow on the apex of stenotic severely injured

producen pequeños trombos ricos en plaquetas que no tienen significación clínica, pero estimulan la proliferación de células musculares lisas y la regeneración del endotelio modificando la respuesta vasomotora de la arteria^{64,65,66}. Mayores áreas de lesión endotelial pueden permitir la formación de un trombo rico en plaquetas con fibrina y hematíes que pueden conducir a la oclusión del vaso⁶⁷.

En cuanto a la ruptura de la placa, la formación aguda de un trombo en una placa ulcerada parece fundamental en el inicio de los eventos que llevan a la instauración de los síndromes isquémicos agudos. Existen una serie de factores favorecedores de la ruptura, que podrían clasificarse en físicos y químicos⁶⁸. Entre los primeros: la presión arterial, el diámetro de la arteria (a mayor diámetro, mayor probabilidad de fuerzas de estrés en contra de la pared), la turbulencia del flujo, el impacto contra la placa de la presión de la sangre que circula, el material de la placa y la densidad del lípido acumulado en la placa. Respecto a los factores químicos, destacan distintas metaloproteinasas, procedentes de la

vessel wall. Experimental study in the pig model. *J Clin Invest* 1989;84(4): 1134-44

⁶³ Badimon L, Badimon JJ, Turitto VT, Vallabhajosula S, Fuster V. Platelet thrombus formation on collagen type I. A model of deep vessel injury. Influence of blood rheology, von Willebrand factor, and blood coagulation. *Circulation* 1988;78:1431-42

⁶⁴ Badimon L, Badimon JJ, Vilahur G, Segales E, Llorente V. Pathogenesis of the acute coronary syndromes and therapeutic implications. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32:225-31

⁶⁵ Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med* 1992;326:242-50

⁶⁶ Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med* 1992;326:310-8

⁶⁷ Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation* 1993;87:II3-16

⁶⁸ Fuster V. 50th anniversary historical article. Acute coronary syndromes: the degree and morphology of coronary stenoses. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(5 Suppl B):52B-54B

apoptosis de los macrófagos, inducibles por las LDLox⁶⁹, que degradan la cubierta de colágeno del núcleo lipídico^{70,71}

El proceso de ruptura de la placa podría describirse en tres fases: la primera es la entrada de sangre en el núcleo de la placa desde la luz del vaso, con activación de plaquetas y de la cascada de la coagulación (trombosis intraplaca)⁷²; una segunda fase consiste en un trombo con una gran cantidad de fibrina y plaquetas que forma una masa trombótica en la luz del vaso expuesta a la sangre circulante pero que no la ocluye completamente^{73,74}; la fase final consiste en la oclusión total de la arteria por el trombo que crece por propagación⁷⁵.

⁶⁹ Huang Y, Mironova M, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(11):2640-7

⁷⁰ Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994;94:2493-503

⁷¹ Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91(11):2844-50

⁷² Badimon L, Badimon JJ, Turitto VT, Vallabhajosula S, Fuster V. Platelet thrombus formation on collagen type I. A model of deep vessel injury. Influence of blood rheology, von Willebrand factor, and blood coagulation. *Circulation* 1988;78:1431-42

⁷³ Badimon L, Badimon JJ. Mechanisms of arterial thrombosis in nonparallel streamlines: platelet thrombi grow on the apex of stenotic severely injured vessel wall. Experimental study in the pig model. *J Clin Invest* 1989;84(4):1134-44

⁷⁴ Mailhac A, Badimon JJ, Fallon JT, et al. Effect of an eccentric severe stenosis on fibrin(ogen) deposition on severely damaged vessel wall in arterial thrombosis. Relative contribution of fibrin(ogen) and platelets. *Circulation* 1994;90(2):988-96

⁷⁵ Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ. Thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques and rethrombosis on evolving thrombi. *Circulation* 1992;86(6 Suppl):III74-8

3.- HEMOSTASIA Y ATEROSCLEROSIS

Existen evidencias de que un estado protrombogénico o hipercoagulable podría favorecer la trombosis focal⁷⁶. Distintos factores (tabaquismo⁷⁷, hipercolesterolemia⁷⁸, diabetes⁷⁹) activan los monocitos circulantes, que entran en apoptosis, expresando FT. Por otra parte, se ha demostrado que determinados fármacos (aspirina⁸⁰, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina⁸¹, estatinas⁸²) y el ejercicio físico pueden disminuir la trombogenicidad de la sangre, al reducir la apoptosis⁸³ o activación⁸⁴ de los monocitos.

La presencia de distintos mediadores y efectores, tanto de la trombosis como de la fibrinólisis, serán claves para la modulación de la respuesta trombótica y, por tanto, la evolución de la lesión aterosclerótica y la magnitud de la manifestación clínica.

⁷⁶ Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1262-75

⁷⁷ Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Royo T, Lassila R, Badimon JJ. A sudden increase in plasma epinephrine levels transiently enhances platelet deposition on severely damaged arterial wall--studies in a porcine model. *Thromb Haemost* 1999;82:1736-42

⁷⁸ Ridker PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors: can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med* 1999;130(11):933-7

⁷⁹ Rauch U, Crandall J, Osende JJ, et al. Increased thrombus formation relates to ambient blood glucose and leukocyte count in diabetes mellitus type 2. *Am J Cardiol* 2000;86(2):246-9

⁸⁰ Ikonomidis I, Andreotti F, Economou E, Stefanadis C, Toutouzas P, Nihoyannopoulos P. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999;100:793-8

⁸¹ Moriyama Y, Ogawa H, Oshima S, et al. Relationship between serum angiotensin-converting enzyme activity and plasma plasminogen activator inhibitor activity in patients with recent myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 1998;9(10):691-6

⁸² Rauch U, Osende JJ, Chesebro JH, et al. Statins and cardiovascular diseases: the multiple effects of lipid-lowering therapy by statins. *Atherosclerosis* 2000;153(1):181-9

⁸³ Schmermund A, Lerman LO, Ritman EL, Rumberger JA. Cardiac production of angiotensin II and its pharmacologic inhibition: effects on the coronary circulation. *Mayo Clin Proc* 1999;74:503-13

3.1. AGREGACIÓN PLAQUETARIA

Además de las sustancias altamente trombogénicas, que se liberan tras la ruptura de una placa aterosclerótica, tanto las catecolaminas circulantes como el adenosín difosfato (ADP) liberado por los hematíes hemolizados son potentes agonistas plaquetarios⁸⁵. Esto podría relacionar el estrés emocional con las variaciones circadianas y las catecolaminas en el desarrollo del IAM. Cada uno de estos agonistas se une a receptores específicos presentes en la membrana plaquetaria, provocando la liberación de calcio en el sistema tubular, con lo que se promueve la contracción de la plaqueta y la liberación del contenido de los gránulos^{86,87}. Asimismo, estimulan la liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de membrana plaquetaria y la formación de tromboxano A₂, que promueve, a su vez, la activación de plaquetas adyacentes, aumentando el tamaño del trombo⁸⁸. El tromboxano B₂ (TxB₂) es un metabolito del anterior, menos activo, pero más estable. Se produce por la acción de la ciclooxigenasa de las plaquetas y del endotelio. Por ello, se utiliza como marcador tanto de agregación plaquetaria como de activación endotelial⁸⁹.

⁸⁴ Smith JK, Dykes R, Douglas JE, Krishnaswamy G, Berk S. Long-term exercise and atherogenic activity of blood mononuclear cells in persons at risk of developing ischemic heart disease. *Jama* 1999;281:1722-7

⁸⁵ Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Royo T, Lassila R, Badimon JJ. A sudden increase in plasma epinephrine levels transiently enhances platelet deposition on severely damaged arterial wall--studies in a porcine model. *Thromb Haemost* 1999;82:1736-42

⁸⁶ Marcus AJ, Safier LB. Thromboregulation: multicellular modulation of platelet reactivity in hemostasis and thrombosis. *Faseb J* 1993;7(6): 516-22

⁸⁷ Kroll MH, Schafer AI. Biochemical mechanisms of platelet activation. *Blood* 1989;74(4):1181-95

⁸⁸ Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med* 1992;326:310-8

⁸⁹ Lahoz C, Alonso R, Ordovas JM, Lopez-Farre A, de Oya M, Mata P. Effects of dietary fat saturation on eicosanoid production, platelet aggregation and blood pressure. *Eur J Clin Invest* 1997;27:780-7

Las uniones entre plaquetas se establecen mediante receptores de glicoproteínas GPIIb-IIIa que se unen a proteínas adhesivas como el fibrinógeno o factor de von Willebrand (FvW).

3.2. ACTIVACIÓN DEL SISTEMA DE COAGULACIÓN

La activación del sistema de coagulación tiene lugar por la exposición de sustancias altamente trombogénicas de la placa de aterosclerosis, generándose trombina, potente activador plaquetario⁹⁰.

Este sistema está constituido por una cascada de reacciones enzimáticas en las que cada enzima inactivo es proteolizado a su forma activa, que a su vez, cataliza la proteólisis de otro zimógeno. Además, el sistema necesita cofactores que lo activen (calcio, fosfolípidos, vitamina K).

Clásicamente se conocen dos maneras de activar la cascada de coagulación (Figura 2). La *vía intrínseca* se inicia cuando quedan expuestos a la circulación distintos elementos de la pared vascular, como el colágeno, que hacen de plataforma para la conversión de factor XII (FXII) a FXII activado (FXIIa) gracias al factor de Hageman. Así, se llega a la activación del Factor X (FX), elemento clave de la cascada de la coagulación. La *vía extrínseca*, por su parte, es la implicada en la coagulación que se produce en el ser humano, incluida la implicada en la aterogénesis. También activa el FX, en presencia de FT⁹¹ procedente de la apoptosis de macrófagos, y del FVIIa. El FXa cataliza la proteólisis de la protrombina a trombina, que es la pieza clave de todo este mecanismo, ya que produce fibrina a partir del fibrinógeno,

⁹⁰ Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ. Thrombus formation on ruptured atherosclerotic plaques and rethrombosis on evolving thrombi. *Circulation* 1992;86:III74-85

responsable de la formación del coágulo. Además, la trombina es un potente activador plaquetario y cataliza la formación de los factores Va y VIIIa, necesarios para retroalimentar el sistema.

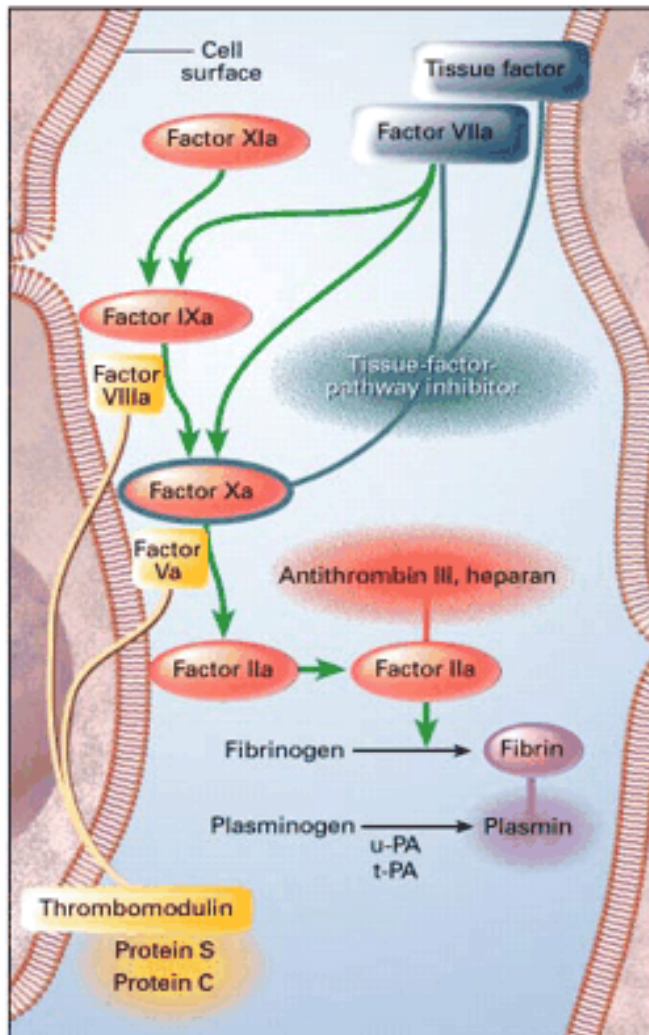


Figura 2. Cascada de la coagulación.

Extraída de: Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-Bed-Specific Hemostasis and Hypercoagulable States. N Engl J Med 1999;340:1555

⁹¹ Badimon L, Badimon JJ, Fuster V. Pathophysiology of arterial thrombosis. In: Gresele P, Page CP, Fuster V, Vermylen J, eds. Platelets in thrombotic and non-thrombotic disorders. Cambridge: Cambridge University Press, 2001

El sistema trombogénico se encuentra bajo un control óptimo ejercido por múltiples inhibidores y activadores, cuyo principal regulador es el endotelio. En condiciones fisiológicas, produce NO y PGI_2 (que, como ya hemos señalado, poseen propiedades antitrombogénicas al inhibir la agregación plaquetaria) y el activador tisular del plasminógeno (tPA), responsable de activar el proceso fibrinolítico, cuya finalidad es degradar el coágulo recién formado. Sin embargo, en situación de disfunción endotelial⁹², se inhibe la producción de estas moléculas y aumenta la expresión del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), potente inhibidor del tPA y la fibrinólisis. Por tanto, en la disfunción endotelial se promueve un estado protrombótico y antifibrinolítico (Figura 3).

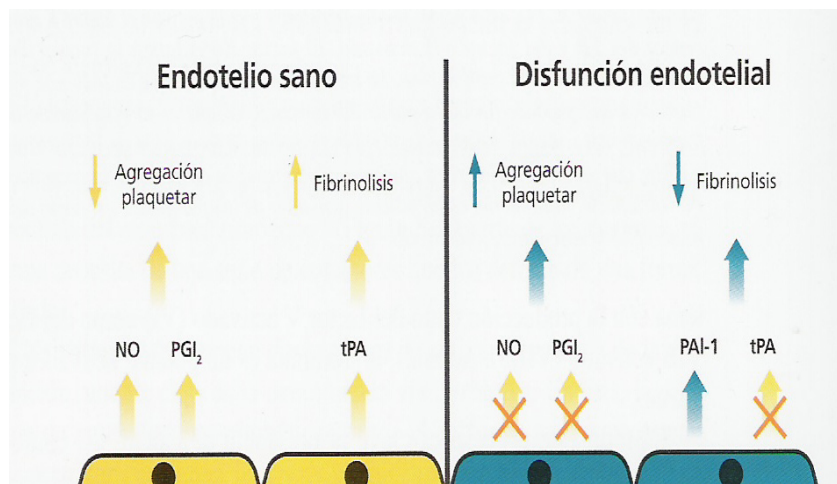


Figura 3. Regulación de la trombosis por el endotelio
Extraída de: Badimon L, Rius J. Estatinas y trombosis. In: Muñoz J, Egido J, eds. Endotelio vascular y estatinas. Madrid: Línea de comunicación, 2005

⁹² Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340(2):115-26

II.- EFECTO DE LA GRASA DE LA DIETA SOBRE LA HEMOSTASIA

1.-HEMOSTASIA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Numerosos investigadores han intentado establecer una relación entre los distintos marcadores plasmáticos de hemostasia y la presencia de enfermedad cardiovascular (ECV). El interés de estos trabajos radica en la posibilidad de utilizar dichos marcadores como factores de riesgo cardiovascular (FRCV) y de desarrollar nuevas intervenciones terapéuticas para prevenir la ECV⁹³. Sin embargo, existen algunas dificultades para estudiar dicha relación. La primera es que distintos componentes de la hemostasia se han correlacionado con varios FRCV, lo que complica el discernimiento del efecto independiente de la hemostasia sobre la ECV. Otra dificultad es la variabilidad de los niveles plasmáticos de los marcadores de hemostasia, con variaciones circadianas (tPA, PAI-1) e intraindividuales. Además, muchos de estos marcadores (tPA, PAI-1, plasminógeno) son reactantes de fase aguda, por lo que podrían elevarse como resultado de la inflamación asociada a la arteriosclerosis⁹⁴.

1.1. COAGULACIÓN Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

1.1.1. Factor VII

1.1.1.1. Determinación en plasma

Se utilizan diferentes métodos: a) Masa o cantidad total, sin reparar en su estado de activación: *Niveles de FVII*

⁹³ Folsom AR. Fibrinolytic factors and atherothrombotic events: epidemiological evidence. *Ann Med* 2000;32 Suppl 1:85-91

⁹⁴ Miller GJ. Dietary fatty acids and the haemostatic system. *Atherosclerosis* 2005;179(2):213-27

antigénico (FVIIag) por radioinmunoanálisis o ELISA⁹⁵, mide la concentración proteica de FVII; “*Coupled amidolytic assay*” (*FVIIam*), estima tanto el FVII activado como el activable. Los resultados de ambos métodos son superponibles cuando las muestras no contienen cantidades significativas de FVII inactivo⁹⁶. b) Actividad coagulante (FVIIC), refleja fundamentalmente la concentración plasmática de la forma zimógeno (que es la medida con el FVIIag), aunque también influye el activado, sin poder definir qué porción corresponde a cada uno⁹⁷. Además, el origen de la tromboplastina utilizada en el ensayo (humana, bovina o conejo) influye en los resultados, de modo que no son comparables⁹⁸.

c) Determinación del FVII activado (FVIIa): Mide la fracción de FVII presente en el plasma que está activado. Esta técnica utiliza FT altamente soluble (FTs), obtenido tras una mutación en el gen del FT. El FTs impide el paso del FVII zimógeno a su forma activada. Así, cuando se utiliza FTs para promover la coagulación, ésta dependerá casi exclusivamente del FVIIa preformado presente en el plasma, permitiendo su determinación⁹⁹.

1.1.1.2. Factores que influyen en la concentración plasmática de FVII

⁹⁵ Broze GJ, Hickman S, Miletich JP. Monoclonal anti-human factor VII antibodies. Detection in plasma of a second protein antigenically and genetically related to factor VII. *J Clin Invest* 1985;76(3):937-4

⁹⁶ Kitchen S, Malia RG, Preston FE. A comparison of methods for the measurement of activated factor VII. *Thromb Haemost* 1992;68(3):301-5

⁹⁷ van Deijk WA, van Dam-Mieras MC, Muller AD, Hemker HC. Evaluation of a coagulation assay determining the activity state of factor VII in plasma. *Haemostasis* 1983;13:192-7

⁹⁸ Poggio M, Tripodi A, Mariani G, Mannucci PM. Factor VII clotting assay: influence of different thromboplastins and factor VII-deficient plasmas. CISMEL Study Group. *Thromb Haemost* 1991;65:160-4

⁹⁹ Morrissey JH, Macik BG, Neuenschwander PF, Comp PC. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation. *Blood* 1993;81:734-44

Las siguientes variables han demostrado asociación positiva con los niveles de FVII: vivir en ámbito urbano¹⁰⁰, edad, sexo femenino en ancianos y masculino en jóvenes¹⁰¹, fase folicular del ciclo menstrual¹⁰², menopausia¹⁰³, obesidad¹⁰⁴, insulin-resistencia¹⁰⁵, diabetes mellitus¹⁰⁶, triglicéridos (TG) basales¹⁰⁷ y postprandiales¹⁰⁸, fosfolípidos séricos¹⁰⁹ y ácidos grasos saturados (AGS) en fosfolípidos plasmáticos¹¹⁰. El efecto de la grasa alimentaria se detallará en el apartado correspondiente a "Grasa y coagulación".

¹⁰⁰ Pajak A, Broda G, Manolio TA, et al. Constitutional, biochemical and lifestyle correlates of fibrinogen and factor VII activity in Polish urban and rural populations. *Int J Epidemiol* 1998;27(6):953-61

¹⁰¹ Ishikawa S, Kario K, Nago N, et al. Factor VII and fibrinogen levels examined by age, sex, and other atherosclerotic risk factors in a Japanese population. The Jichi Medical School Cohort Study. *Thromb Haemost* 1997;77(5):890-3

¹⁰² Kapiotis S, Jilma B, Pernerstorfer T, Stohlawetz P, Eichler HG, Speiser W. Plasma levels of activated factor VII decrease during the menstrual cycle. *Thromb Haemost* 1998;80:588-91

¹⁰³ Balleisen L, Bailey J, Epping PH, Schulte H, van de Loo J. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost* 1985;54:475-9

¹⁰⁴ Girelli D, Olivieri O, Arigliano PL, Guarini P, Bassi A, Corrocher R. Influences of lipid and non-lipid nutritional parameters on factor VII coagulant activity in normal subjects: the Nove study. *Eur J Clin Invest* 1996;26:199-204

¹⁰⁵ Mansfield MW, Heywood DM, Grant PJ. Circulating levels of factor VII, fibrinogen, and von Willebrand factor and features of insulin resistance in first-degree relatives of patients with NIDDM. *Circulation* 1996;94(9):2171-6

¹⁰⁶ Heywood DM, Mansfield MW, Grant PJ. Factor VII gene polymorphisms, factor VII:C levels and features of insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1996;75(3):401-6

¹⁰⁷ Humphries SE, Lane A, Dawson S, Green FR. The study of gene-environment interactions that influence thrombosis and fibrinolysis. Genetic variation at the loci for factor VII and plasminogen activator inhibitor-1. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:1322-9

¹⁰⁸ Miller GJ, Martin JC, Mitropoulos KA, et al. Plasma factor VII is activated by postprandial triglyceridaemia, irrespective of dietary fat composition. *Atherosclerosis* 1991;86(2-3):163-71

¹⁰⁹ Mariani G, Conard J, Bernardi F, et al. Oral contraceptives highlight the genotype-specific association between serum phospholipids and activated factor VII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(8):2024-8

¹¹⁰ Folsom AR, Ma J, Eckfeldt JH, Shahar E, Wu KK. Plasma phospholipid fatty acid composition and factor VII coagulant activity. *Atherosclerosis* 1994;111:199-207

1.1.1.3. FVII y Enfermedad Cardiovascular

En 1986, el *Northwick Park Heart Study* (NPHS)¹¹¹, tras 5 años de seguimiento de 1511 hombres de mediana edad, encontró una fuerte asociación entre los episodios de cardiopatía isquémica fatales y los niveles de FVIIc, superior a la asociación con la concentración plasmática de colesterol. En 1987, el *Prospective Cardiovascular Münster Study* (PROCAM) obtuvo resultados preliminares similares¹¹², pero en el seguimiento a largo plazo las diferencias no fueron significativas, observando sólo una tendencia a niveles elevados en los eventos fatales¹¹³. Desde entonces, numerosos trabajos han intentado establecer la implicación

¹¹¹ Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533-7

¹¹² Balleisen L, Schulte H, Assmann G, Epping PH, van de Loo J. Coagulation factors and the progress of coronary heart disease. *Lancet* 1987;2:461

¹¹³ Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, van de Loo J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb* 1994;14:54-9

¹¹⁴ Lane A, Green F, Scarabin PY, et al. Factor VII Arg/Gln353 polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and control subjects in Belfast and in France but is not a strong indicator of MI risk in the ECTIM study. *Atherosclerosis* 1996;119:119-27

¹¹⁵ Redondo M, Watzke HH, Stucki B, et al. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210G-->A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease: high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1020-5

¹¹⁶ Irish AB, Green FR. Environmental and genetic determinants of the hypercoagulable state and cardiovascular disease in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:167-73

¹¹⁷ Ossei-Gerning N, Wilson I, Grant P. Sex differences in coagulation and fibrinolysis in subjects with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1998;79:734-6

¹¹⁸ Cooper JA, Miller GJ, Bauer KA, et al. Comparison of novel hemostatic factors and conventional risk factors for prediction of coronary heart disease. *Circulation* 2000;102:2816-22

¹¹⁹ Moor E, Silveira A, van't Hoof F, et al. Coagulation factor VII mass and activity in young men with myocardial infarction at a young age. Role of plasma lipoproteins and factor VII genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:655-64

¹²⁰ Feng D, Tofler GH, Larson MG, et al. Factor VII gene polymorphism, factor VII levels, and prevalent cardiovascular disease: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:593-60

del FVII en la ECV, con resultados muy heterogéneos (Tablas 2, 3 y 4).

Autor	Territorio	FVII	Relación
NPHS ¹¹¹	CORONARIO	FVIIC	Fuerte Asoc+ eventos fatales
PROCAM ¹¹³			Tiende Asoc+ eventos fatales
Lane ¹¹⁴			Asociación negativa IAM fatales
Redondo ¹¹⁵			Asociación positiva EC
Irish ¹¹⁶			Asoc+ transplantados riñón
Ossei ¹¹⁷			Tiende Asoc+ mujeres estenosis en angiografía
Cooper ¹¹⁸		FVIIag FVIIa	FVIIa Asociación negativa EC
Moor ¹¹⁹			FVIIag Asoc+ IAM<45 años
FENA ¹²⁰		FVIIag	No Asoc. EC en Framingham
Salomaa ¹²¹		FVIIag FVIIC	FVIIC Asoc+ si antecedentes EC
Suzuki ¹²²			Asociación+ EC
Iacoviello ¹²³			Asociación+ IAM
Moss ¹²⁴		FVIIa	No asociación recurrencias EC
Eichner ¹²⁵			No diferencia estenosis > ó <50%

Tabla 2: Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad coronaria. FVIIC= Factor VII coagulante; FVIIa= Factor VII activado; FVIIag= Factor VII antigénico; Asoc+: asociación positiva

De los 19 estudios sobre enfermedad coronaria (EC) (Tabla 2), 7 encontraron asociación y 2 tendencia a ella. De los 10 estudios con FVIIC, 7 fueron positivos para la asociación

¹²¹ Salomaa V, Rasi V, Kulathinal S, et al. Hemostatic factors as predictors of coronary events and total mortality: The FINRISK '92 Hemostasis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:353-8

¹²² Suzuki T, Yamauchi K, Matsushita T, et al. Elevation of factor VII activity and mass in coronary artery disease of varying severity. *Clin Cardiol* 1991;14:731-6

¹²³ Iacoviello L, Donati MB. Blood coagulation factor VII activity and the risk of myocardial infarction: the novel identification of a genetic protection that can be mimicked by an old drug. *G Ital Cardiol* 1998;28(6):718-2

¹²⁴ Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999;99(19):2517-22

¹²⁵ Eichner JE, Moore WE, Schechter E, Reynolds DW, Morrissey JH, Comp PC. Activated factor VII levels in patients with angiographically confirmed coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997;80:217-9

(en Salomaa *y cols.* sólo en presencia de EC previa¹²¹); Heinrich *y cols.* encontraron tendencia con eventos fatales¹¹³; Ossei *y cols.* tendencia en mujeres con estenosis significativa¹¹⁸ y en Lane *y cols.* la asociación fue negativa para IAM no fatales¹¹⁴. Ninguno de los estudios con FVIIa ha demostrado asociación con EC, incluso en Cooper *y cols.* mostró una asociación negativa¹¹⁸.

En un trabajo de casos y controles realizado por nuestro grupo, Fernández de la Puebla *y cols.* encuentran, en personas de más de 75 años, una asociación positiva entre niveles elevados de FVIIc y presencia de EC¹²⁶.

<i>Autor</i>	<i>Territorio</i>	<i>FVII</i>	<i>Relación</i>
Heywood ¹²⁷	Cerebro-vascular	FVIIc	Asoc negativa fase aguda No asociación fase crónica
Sosef ¹²⁸			No asociación
Barber ¹²⁹			No asociación fase aguda
Cortellaro ¹³⁰			Asoc+arteriosclerosis carotídea
Rajecki ¹³¹		FVIIag	No asociación
Ghaddar ¹³²		FVIIc	No Asoc arteriosclerosis carotídea

Tabla 3: Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad cerebro-vascular. FVIIc= Factor VII coagulante; FVIIag= Factor VII antigénico; Asoc(+): asociación (positiva)

Respecto a la *enfermedad vascular cerebral (EVC)* (Tabla 3), de los 6 estudios^{127,128,129,130,131,132}, sólo en

¹²⁶ Fernandez de la Puebla Gimenez RA, Ceballos P, Perez Martinez P, et al. Actividad coagulante del factor VII (FVIIc) en ancianos con cardiopatía isquémica. Med Clin (Barc) 2000;115:654-7

¹²⁷ Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. Stroke 1997;28:816-21

¹²⁸ Sosef MN, Bosch JG, van Oostayen J, Visser T, Reiber JH, Rosendaal FR. Relation of plasma coagulation factor VII and fibrinogen to carotid artery intima-media thickness. Thromb Haemost 1994;72:250-4

¹²⁹ Barber M, Langhorne P, Rumley A, Lowe GD, Stott DJ. Hemostatic function and progressing ischemic stroke: D-dimer predicts early clinical progression. Stroke 2004;35:1421-5

Cortellaro *y cols.*¹³⁰ el FVIIc se comportó como un factor de riesgo independiente para la progresión de la arteriosclerosis carotídea.

Por otra parte, Orlando *y cols.*¹³³ advirtieron mayores niveles de FVIIag y FVIIc en pacientes con *enfermedad arterial periférica* (Tabla 4), comparados con la población control, hecho que no fue corroborado por Lee *y cols.*¹³⁴ midiendo FVIIa. Posteriormente, Parry *y cols.* publicaron un aumento significativo de los niveles de FVIIc en los familiares directos de hombres con claudicación intermitente¹³⁵.

<i>Autor</i>	<i>Territorio</i>	<i>FVII</i>	<i>Relación</i>
Lee ¹³⁴	Periférico	FVIIa	No asociación
Cortellaro ¹³⁰		FVIIc	
Orlando ¹³³		FVIIc FVIIag	Ambos Asoc+

Tabla 4: Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad aterotrombótica periférica. FVIIc= Factor VII coagulante; FVIIa= Factor VII activado; FVIIag= Factor VII antigénico; Asoc+= asociación positiva

¹³⁰ Cortellaro M, Baldassarre D, Cofrancesco E, et al. Relation between hemostatic variables and increase of common carotid intima-media thickness in patients with peripheral arterial disease. *Stroke* 1996;27(3):450-4

¹³¹ Rajceki M, Pajunen P, Jousilahti P, et al. Hemostatic factors as predictors of stroke and cardiovascular diseases: the FINRISK '92 Hemostasis Study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16(2):119-24

¹³² Ghaddar HM, Folsom AR, Aleksic N, et al. Correlation of factor VIIa values with factor VII gene polymorphism, fasting and postprandial triglyceride levels, and subclinical carotid atherosclerosis. *Circulation* 1998;98(25):2815-2

¹³³ Orlando M, Leri O, Macioce G, Mattia G, Ferri GM. Factor VII in subjects at risk for thromboembolism: activation or increased synthesis? *Haemostasis* 1987;17:340-3

¹³⁴ Lee AJ, Fowkes FG, Lowe GD, Connor JM, Rumley A. Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study. *Thromb Haemost* 1999;81:553-60

¹³⁵ Parry DJ, Grant PJ, Scott DJ. Atherothrombotic risk factor clustering in healthy male relatives of male patients with intermittent claudication. *J Vasc Surg* 2004;40(5):891-8

Como ya hemos señalado, la concentración plasmática de FVII está influenciada por factores genéticos. Diversos estudios han intentado relacionar distintos polimorfismos conocidos del gen del FVII con una mayor o menor incidencia de enfermedad cardiovascular, con resultados conflictivos. Ye y cols. publicaron un metaanálisis con más de 66000 casos de EC en los que no encontraron relación entre su incidencia y el polimorfismo G10976A¹³⁶.

1.1.2. Fibrinógeno

Estudios prospectivos establecen de forma consistente la asociación entre las concentraciones plasmáticas de fibrinógeno, el principal componente del coágulo, y la ECV¹³⁷. En pacientes con cardiopatía isquémica, se correlaciona con la severidad de la enfermedad, recidiva de episodios isquémicos y con el riesgo de reestenosis tras angioplastia^{138,139}.

1.1.3. Otros factores de coagulación

Distintos trabajos han evidenciado su relación con la ECV: Niveles plasmáticos elevados de Factor XI y de FvW se han relacionado con un aumento del riesgo de ictus isquémico¹⁴⁰ y claudicación intermitente¹⁴¹, respectivamente.

¹³⁶ Ye Z, Liu EH, Higgins JP, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006;367(9511):651-8

¹³⁷ Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993;342:1076-9

¹³⁸ Montalescot G, Ankri A, Vicaut E, Drobinski G, Grosgeat Y, Thomas D. Fibrinogen after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. *Circulation* 1995;92:31-8

¹³⁹ Broadhurst P, Kelleher C, Hughes L, Imeson JD, Raftery EB. Fibrinogen, factor VII clotting activity and coronary artery disease severity. *Atherosclerosis* 1990;85:169-73

¹⁴⁰ Berliner JJ, Rybicki AC, Kaplan RC, Monrad ES, Freeman R, Billett HH. Elevated levels of Factor XI are associated with cardiovascular disease in women. *Thromb Res* 2002;107:55-60

¹⁴¹ Cassar K, Bachoo P, Ford I, Greaves M, Brittenden J. Markers of coagulation activation, endothelial stimulation and inflammation in patients with peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005;29:171-6

Por otra parte, cierto polimorfismo del Factor XIII ha demostrado efecto protector de EC e ictus isquémico¹⁴². Sin embargo, no se ha encontrado relación entre los niveles de otros factores^{143,144} y la presencia de ECV.

1.2. FIBRINOLISIS Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La lisis del coágulo se inicia inmediatamente tras la formación del tapón hemostático. Existen tres activadores potenciales del sistema fibrinolítico: los fragmentos del factor de Hageman, el *activador del plasminógeno urinario* o urocinasa (uPA) y el tPA. Estos dos últimos difunden de las células endoteliales y convierten en plasmina el plasminógeno adsorbido en el coágulo de fibrina. La plasmina degrada el polímero de fibrina en pequeños fragmentos, que son eliminados por el sistema monocito-macrófago. Aunque la plasmina puede también degradar el fibrinógeno, la reacción permanece localizada, debido a que: 1) el tPA y algunas formas de uPA activan el plasminógeno más eficazmente si éste está adsorbido en los coágulos de fibrina; 2) la plasmina que se introduce en la circulación se fija y se neutraliza por el *inhibidor de la plasmina α_2* , y 3) las células endoteliales liberan el PAI-1, que bloquea directamente la acción del tPA¹⁴⁵.

La fluidez de la sangre se mantiene por el propio flujo sanguíneo, por la adsorción de los factores de la coagulación a

¹⁴² Ariens RA, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood* 2002;100:743-54

¹⁴³ Smiles AM, Jenny NS, Tang Z, Arnold A, Cushman M, Tracy RP. No association of plasma prothrombin concentration or the G20210A mutation with incident cardiovascular disease: results from the Cardiovascular Health Study. *Thromb Haemost* 2002;87:614-21

¹⁴⁴ Redondo M, Watzke HH, Stucki B, et al. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210G-->A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease: high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(4):1020-5

las superficies y por la presencia de múltiples inhibidores en el plasma, entre los que destacan la antitrombina, las *proteínas C y S* y el *inhibidor de la vía del factor tisular* (TFPI). Estos inhibidores presentan diferentes formas de acción. La antitrombina forma complejos con todos los factores de la coagulación de la proteína serina, excepto con el FVII. La *proteína C* se convierte en una proteasa activa por la trombina tras su unión a una proteína de la célula endotelial llamada *trombomodulina*. Entonces, la *proteína C activada* inactiva a los cofactores plasmáticos V y VIII, lo que disminuye la velocidad de dos reacciones de coagulación críticas. La proteína C también puede estimular la liberación de tPA por las células endoteliales. La función inhibidora de la proteína C está potenciada por la proteína S¹⁴⁵.

Existen razones para pensar que la fibrinólisis puede participar en la etiología de la ECV: 1) La trombosis de las placas erosionadas conduce en la mayoría de casos a fenómenos aterotrombóticos. 2) Los agentes fibrinolíticos son efectivos en el tratamiento de la trombosis arterial. 3) Modelos animales con deficiencia de plasminógeno y uPA desarrollan trombosis generalizada. 4) La expresión de tPA, PAI-1 y uPA está incrementada en la placa de arteriosclerosis. 5) El sistema fibrinolítico está implicado en la activación de las metaloproteinasas de la matriz, fundamentales en la estabilidad de la placa y el remodelado tisular¹⁴⁶.

¹⁴⁵ Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison. Principios de Medicina Interna. 16 ed. México, D.F.: Mc-Graw Hill Interamericana Editores, S.A. ; 2006

¹⁴⁶ Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 1999;82:259-70

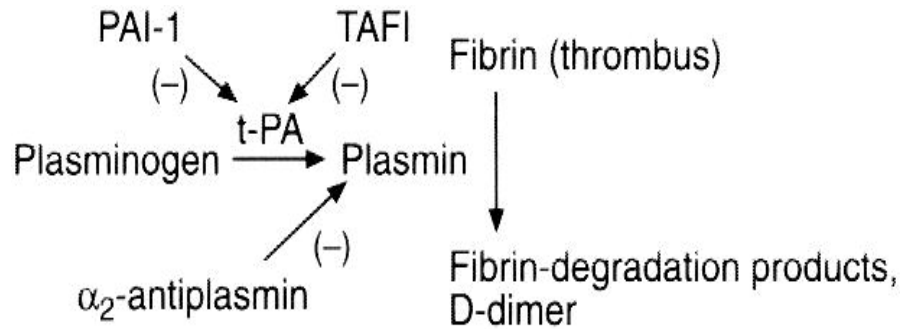


Figura 4. Fibrinólisis. PAI-1=Inhibidor del plasminógeno activado-1; tPA= Activador del plasminógeno tisular; TAFI= Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina

Extraída de: Folsom, AR. Fibrinolytic factors and atherothrombosis events: epidemiological evidences. Ann Med 2000; 32 (Suppl 1):85-9

La actividad del sistema fibrinolítico en el plasma puede medirse de varias maneras: Tiempo de lisis de la fibrina del coágulo: medida global de la fibrinólisis que se alarga cuando ésta se deteriora; tPA y PAI-1 antigénicos o actividad (-ag o -a); tPA/PAI-1; plasmina-antiplasmina o plasminógeno.

Como puede apreciarse en la *Figura 4*, niveles altos de tPAa en plasma y bajos de PAIag y PAIa reflejan un mayor potencial fibrinolítico. Ya que sólo un pequeño porcentaje de tPAag es activo, y la mayoría se une a PAI-1, los tPAag y PAIag se correlacionan¹⁴⁷. Así, niveles bajos de tPAag reflejan un mayor potencial fibrinolítico. El dímero D (DD) se considera un marcador de recambio de fibrina.

Numerosos estudios transversales clínicos han demostrado que pacientes con EC o ictus tienen evidencia de alteración de la fibrinólisis cuando se comparan con controles sanos. Estos estudios a menudo presentan grupos control inapropiados y pueden resentirse de que los marcadores fibrinolíticos se miden durante la fase aguda de la

¹⁴⁷ Salomaa V, Stinson V, Kark JD, Folsom AR, Davis CE, Wu KK. Association of fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. The ARIC Study. Circulation 1995;91:284-90

enfermedad^{148,149,150}. Los estudios prospectivos clínicos y epidemiológicos aportan más información. El primero de los estudios clínicos, realizado por Hamsted y cols., midió los factores hemostáticos 3-6 meses tras un IAM en 97 hombres menores de 45 años¹⁵¹. Los que reinfartaron mostraron un 25% menos de tPAa y un 60% más de PAI-1a que los que no recayeron. El estudio ECAT (European Conceded Action of Trombosis) en pacientes con angina corroboró ampliamente estos resultados^{152,153}. Posteriormente, se publicó que la asociación entre PAI-1 y tPA con el riesgo de EC desaparecía tras el ajuste por parámetros de resistencia a la insulina, disfunción endotelial e inflamación¹⁵⁴. Otros estudios clínicos han demostrado asociación entre factores fibrinolíticos y la recurrencia de ECV^{155,156,157,158,159,160,161}. Los resultados son

¹⁴⁸ Folsom AR. Fibrinolytic factors and atherothrombotic events: epidemiological evidence. *Ann Med* 2000;32 Suppl 1:85-9

¹⁴⁹ Soeki T, Tamura Y, Fukuda N, Ito S. Plasma and platelet plasminogen activator inhibitor-1 in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J* 2000;64:547-53

¹⁵⁰ Barber M, Langhorne P, Rumley A, Lowe GD, Stott DJ. Hemostatic function and progressing ischemic stroke: D-dimer predicts early clinical progression. *Stroke* 2004;35:1421-5

¹⁵¹ Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987;2:3-9

¹⁵² Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *N Engl J Med* 1995;332:635-41

¹⁵³ Juhan-Vague I, Pyke SD, M.C. A, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. *Circulation* 1996;94:2057-63

¹⁵⁴ Smith FB, Rumley A, Lee AJ, Leng GC, Fowkes FG, Lowe GD. Haemostatic factors and prediction of ischaemic heart disease and stroke in claudicants. *Br J Haematol* 1998;100:758-63

¹⁵⁵ Bavenholm P, de Faire U, Landou C, Efendic S, Nilsson J, Wiman B. Progression of coronary artery disease in young male post-infarction patients is linked to disturbances of carbohydrate and lipoprotein metabolism and to impaired fibrinolytic function. *Eur Heart J* 1998;19:402-10

¹⁵⁶ Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, Tanaka H, Bando K, Yui Y. Fibrinolytic factors, serum lipid and C-reactive protein predicting cardiac events in Japanese patients with coronary atherosclerotic lesions. *Jpn Circ J* 1999;63:976-80

más consistentes entre personas con tPAa reducida o niveles elevados de tPAag, tPA/PAI-1, o DD, y menos consistente para el PAI-1^{162,163,164,165,166}. (Tabla 5).

Nueve estudios epidemiológicos han investigado la relación entre marcadores de fibrinólisis y ECV^{158,167,168,169,170,171,172,173,174,175,176,177} (Tabla 6).

¹⁵⁷ Woodward M, Lowe GD, Campbell DJ, et al. Associations of inflammatory and hemostatic variables with the risk of recurrent stroke. *Stroke* 2005.;36(10):2143-7

¹⁵⁸ Tait RC, Murdoch DL, O'Neill KF, et al. Fibrin D-dimer levels is an independent predictor of future stroke in patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2003;108:787

¹⁵⁹ Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984;311:501-5

¹⁶⁰ Meade TW, Cooper JA, Chakrabarti R, Miller GJ, Stirling Y, Howarth DJ. Fibrinolytic activity and clotting factors in ischaemic heart disease in women. *BMJ* 1996;312:1581

¹⁶¹ Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 1993;341:1165-8

¹⁶² Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, et al. Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999;99(19):2517-22

¹⁶³ Held C, Hjemdahl P, Rehnqvist N, Wallen NH, Bjorkander I, Eriksson SV. Fibrinolytic variables and cardiovascular prognosis in patients with stable angina pectoris treated with verapamil or metoprolol. Results from the Angina Prognosis study in Stockholm. *Circulation* 1997;95:2380-6

¹⁶⁴ Smith FB, Rumley A, Lee AJ, Leng GC, Fowkes FG, Lowe GD. Haemostatic factors and prediction of ischaemic heart disease and stroke in claudicants. *Br J Haematol* 1998;100:758-63

¹⁶⁵ Cassar K, Bachoo P, Ford I, Greaves M, Brittenden J. Markers of coagulation activation, endothelial stimulation and inflammation in patients with peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005;29:171-6

¹⁶⁶ Parry DJ, Grant PJ, Scott DJ. Fibrinolytic risk factor clustering and insulin resistance in healthy male relatives of men with intermittent claudication. *Br J Surg* 2006;93(3):315-24

¹⁶⁷ Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. A prospective study of plasminogen activator inhibitor and the risk of future myocardial infarction. *Circulation* 1992;85: I-325

¹⁶⁸ Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Manson JE, Vaughan DE. Prospective study of endogenous tissue plasminogen activator and risk of stroke. *Lancet* 1994;343:940-3

¹⁶⁹ Ridker PM, Hennekens CH, Cerskus A, Stampfer MJ. Plasma concentration of cross-linked fibrin degradation product (D-dimer) and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 1994;90:2236-40

¹⁷⁰ Lowe GD, Yarnell JW, Sweetnam PM, Rumley A, Thomas HF, Elwood PC. Fibrin D-dimer, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Study. *Thromb Haemost* 1998;79:129-33

<i>Autor</i>	<i>Parámetro</i>	<i>Relación</i>
Hamsten ¹⁵¹	tPAa PAI-1a	Asoc- reinfarto miocardio Asoc+ reinfarto miocardio
ECAT ^{152,153}	tPAag PAI-1ag/a	Asoc+recidiva angina*
Moss ¹⁶²	PAI-1a, DD	Asoc+ DD recidiva EC
Bavenholm ¹⁵⁵	PAI-1a	Asoc+ progresión EC
Soeki ¹⁵⁶	tPAag	Asoc+ EC
Held ¹⁶³	tPAag/a, PAI-1a reposo/ejercicio	tPAag-reposo, PAI-1a:Asoc+ muerte EC tPAag ejercicio: Asoc- EC*
Smith ¹⁶⁴	tPAag, DD	DD Asoc+ EC*
Woodward ¹⁵⁷		tPA Asoc+ Ictus*
Cassar ¹⁶⁵	DD	Asoc+ CI e ICE
Tait ¹⁵⁸		Asoc+ Ictus en FA
Parry ¹⁶⁶	PAI-1a, tPA, DD	Asoc+ Familiares arteriopatía periférica

Tabla 5: Principales estudios clínicos sobre Fibrinólisis y ECV

tPAa/ag= Activador tisular del plasminógeno actividad/antígeno; PAI-1a/ag= Inhibidor del activador del plasminógeno-1 actividad/antígeno; DD= Dímero D; Asoc+= Asociación positiva; Asoc-= Asociación negativa; EC= Enfermedad coronaria; CI= Claudicación intermitente; ICE= Isquemia crítica de la extremidad; FA= Fibrilación auricular

* Asociación no significativa tras ajuste por otros FRCV

¹⁷¹ Folsom AR, Aleksic N, Park E, Salomaa V, Juneja H, Wu KK. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:611-7

¹⁷² Thogersen AM, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Weinehall L, Huhtasaari F. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998;98:2241-7

¹⁷³ Johansson L, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Stegmayr B, Hallmans G. Tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1, and tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex as risk factors for the development of a first stroke. *Stroke* 2000;31:26-32

¹⁷⁴ Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty BM, Macy EM, Sharrett AR. Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly. *The Cardiovascular Health Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:493-8

¹⁷⁵ Gram J, Bladbjerg EM, Moller L, Sjol A, Jespersen J. Tissue-type plasminogen activator and C-reactive protein in acute coronary heart disease. A nested case-control study. *J Intern Med* 2000;247:205-12

¹⁷⁶ Smith FB, Lee AJ, Fowkes FG, Price JF, Rumley A, Lowe GD. Hemostatic factors as predictors of ischemic heart disease and stroke in the Edinburgh Artery Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3321-5

¹⁷⁷ Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993;342:1076-9

<i>Autor</i>	<i>Parámetro</i>	<i>Relación</i>
Physicians ^{178, 179,180,181}	tPAag PAI-1ag/a DD	tPA Asoc+ Ictus DD Asoc+ EC*
Caerphilly ¹⁸³		tPA Asoc+ EC*; DD Asoc+ EC
ARIC ¹⁸²		tPA Asoc+ EC* PAI-1 Asoc+ EC*; DD Asoc+ EC
Umea ^{172,173}	tPAag, PAI-1ag	tPA Asoc+ IAM e Ictus* PAI-1ag Asoc+ IAM*
CHS ¹⁷⁴	PAI-1ag, DD	DD Asoc+ EC
Glostrup ¹⁷⁵	tPAag	Asoc+ EC
Edinburgh ¹⁷⁶	tPAag, DD	tPA Asoc+ IAM e Ictus DD Asoc+ IAM* e Ictus
Göteborg ¹⁵⁹	Tiempo de lisis de fibrina del coágulo	No asociación con IAM e Ictus
Northwick Park ¹⁷⁷		Asoc+ EC (en mujeres*)

Tabla 6: Principales estudios epidemiológicos sobre Fibrinólisis y ECV
tPAa/ag= Activador tisular del plasminógeno actividad/antígeno; PAI-1a/ag= Inhibidor del activador del plasminógeno-1 actividad/antígeno; DD= Dímero D; Asoc+= Asociación positiva; Asoc-= Asociación negativa; EC= Enfermedad coronaria; IAM= Infarto agudo de miocardio;

* Asociación no significativa tras ajuste por otros FRCV

La mayoría de ellos examinaron la incidencia de ECV en poblaciones inicialmente libres de enfermedad, pero algunos^{180,181} incluían en sus cohortes pequeñas proporciones de enfermos. El tPAag se asoció de forma positiva y consistente con EC^{172,176,183,184} e ictus^{173,176,181} en estos estudios, demostrando en la mayoría una relación dosis-respuesta. En 3 de ellos, la asociación continuó siendo significativa tras ajustar por otros FRCV^{172,176,181}. En cuanto al PAI-1, sólo unos pocos estudios han observado una asociación con la incidencia de

¹⁷⁸ Ridker PM, Hennekens CH, Cerskus A, Stampfer MJ. Plasma concentration of cross-linked fibrin degradation product (D-dimer) and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 1994;90:2236-40

¹⁷⁹ Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. A prospective study of plasminogen activator inhibitor and the risk of future myocardial infarction. *Circulation* 1992;85:I-325

¹⁸⁰ Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 1993;341:1165-8

¹⁸¹ Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Manson JE, Vaughan DE. Prospective study of endogenous tissue plasminogen activator and risk of stroke. *Lancet* 1994;343:940-3

EC, desapareciendo aquélla en muchos de ellos tras el ajuste por FRCV^{172,182}. El DD se ha asociado fuertemente de forma positiva y uniforme con el aumento de incidencia de ECV en modelos no ajustados^{181,176,182,183,184}, persistiendo la asociación en la mayoría de los casos tras el ajuste por FRCV^{176,182,183,184}. Esta relación es, en cierto modo, sorprendente, ya que los niveles elevados de DD en jóvenes sanos se han considerado reflejo de una alta actividad fibrinolítica¹⁸⁵. Por otra parte, el DD se asocia de forma positiva con el fibrinógeno y los fragmentos F1.2 de protrombina¹⁸⁵. Así, la asociación positiva con el riesgo de ECV puede reflejar que los niveles elevados de DD identifican a sujetos con aumento de producción de fibrina y del "turnover" de ésta, más que identificar a sujetos con deterioro de la fibrinólisis.

2.- GRASA DE LA DIETA Y FACTORES DE COAGULACIÓN

En el primer estudio que evidenció la relación entre la ingesta grasa y la coagulación, Kim y cols.¹⁸⁶ compararon en monos una alimentación rica en grasas con otra estándar, observando cómo aquélla producía un incremento significativo en la actividad de FVII, FVIII, FIX y FX. Estos hallazgos

¹⁸² Folsom AR, Aleksic N, Park E, Salomaa V, Juneja H, Wu KK. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:611-7

¹⁸³ Lowe GD, Yarnell JW, Sweetnam PM, Rumley A, Thomas HF, Elwood PC. Fibrin D-dimer, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and the risk of major ischaemic heart disease in the Caerphilly Study. *Thromb Haemost* 1998;79:129-33

¹⁸⁴ Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty BM, Macy EM, Sharrett AR. Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly. *The Cardiovascular Health Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:493-8

¹⁸⁵ MacCallum P, Cooper J, Martin J, Howarth D, Meade T, Miller G. Haemostatic and lipid determinants of prothrombin fragment F1.2 and D-dimer in plasma. *Thromb Haemost* 2000;83:421-6

tuvieron escasa repercusión, ya que aún no se había establecido el papel patogénico de la trombosis en los eventos coronarios. En la década de 1980, tras visualizarse con técnicas angiográficas cómo la trombosis oclusiva precedía a la clínica del síndrome coronario¹⁸⁷, la teoría de la trombosis en la isquemia miocárdica fue universalmente aceptada, y recobró interés la posible relación entre la grasa de la dieta y la coagulación. Así, Mitropoulos y Esnouf^{188,189} sugirieron tras sendos estudios en modelos animales que una dieta rica en colesterol aumentaba el catabolismo de la protrombina, y que sus productos de degradación estimulaban la síntesis hepática de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K, aumentando sus niveles plasmáticos. Posteriormente, varios trabajos han intentado corroborar esta teoría en humanos, con resultados contradictorios^{190,191}.

2.1. EFECTO CRÓNICO DE LA DIETA SOBRE EL FACTOR VII BASAL

2.1.1. Efecto de la cantidad de grasa total

En los años 70 del siglo pasado, el *Northwick Park Heart Study* (NPHS) evidenció una fuerte asociación entre los

¹⁸⁶ Kim WM, Merskey C, Deming QB, et al. Hyperlipidemia, hypercoagulability, and accelerated thrombosis: studies in congenitally hyperlipidemic rats and in rats and monkeys with induced hyperlipidemia. *Blood* 1976;47(2):275-86

¹⁸⁷ DeWood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980;303(16):897-902

¹⁸⁸ Mitropoulos KA, Esnouf MP. Turnover of factor X and of prothrombin in rabbits fed on a standard or cholesterol-supplemented diet. *Biochem J* 1987;244(2):263-9

¹⁸⁹ Mitropoulos KA, Esnouf MP, Meade TW. Increased factor VII coagulant activity in the rabbit following diet-induced hypercholesterolaemia. Evidence for increased conversion of VII to alpha VIIa and higher flux within the coagulation pathway. *Atherosclerosis* 1987;63(1):43-5

¹⁹⁰ Bladbjerg EM, Tholstrup T, Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Dietary changes in fasting levels of factor VII coagulant activity (FVII:C) are accompanied by changes in factor VII protein and other vitamin K-dependent proteins. *Thromb Haemost* 1995;73:239-42

¹⁹¹ Temme EH, Mensink RP, Hornstra G. Effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1999;81(2):259-63

niveles de FVIIc en situación postprandial y el riesgo de enfermedad coronaria fatal¹⁹². Este hallazgo, aunque no ha sido confirmado en estudios posteriores, estimuló la investigación sobre la grasa de la dieta y su relación con el FVII. En el NPHS II la concentración de TG postprandial se asoció con los niveles de FVIIc y FVIIag en hombres sanos de mediana edad¹⁹³. El principal determinante de la trigliceridemia es la ingesta de grasa, por lo que se planteó la hipótesis de que el consumo de grasa influye sobre el FVII, sugerida por las observaciones en animales. En el estudio de Miller y cols.¹⁹⁴, los sujetos consumieron su dieta habitual seguida de una rica en AGS y una pobre en grasas de forma aleatorizada. Las variaciones de FVIIc basales reflejaron los cambios en la ingesta grasa total diaria, pero no se relacionaron con la trigliceridemia. Al cambiar a una dieta pobre en grasas, los TG basales aumentaron, sin incremento en el FVIIc. Por el contrario, en la dieta rica en AGS, una marcada elevación de FVIIc no se acompañó de cambios en los niveles basales de TG. Además, en la dieta rica en AGS se observaron niveles más elevados de FVIIc que en la baja en grasas.

Siete estudios de intervención posteriores han comparado en adultos sanos las alimentaciones rica y pobre en grasa respecto al FVIIc (Tabla 7). En cinco de ellos, las dietas eran isocalóricas y el cociente ácidos grasos poliinsaturados (AGP)/AGS era mayor en la alimentación baja

¹⁹² Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533-7

¹⁹³ Cooper JA, Miller GJ, Bauer KA, et al. Comparison of novel hemostatic factors and conventional risk factors for prediction of coronary heart disease. *Circulation* 2000;102(23):2816-22

¹⁹⁴ Miller GJ, Martin JC, Webster J, et al. Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity—a predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis* 1986;60(3):269-77

en grasa. La diferencia en la ingesta de grasa entre las dos dietas osciló entre un 7 y un 50% según el estudio. El FVIIC fue significativamente mayor en la dieta rica en grasa en cinco de los estudios. Los únicos que no observan diferencias son los realizados por Marckmann y cols.¹⁹⁵ y Lindman y cols.¹⁹⁶.

Por otra parte, Pekkanen y cols.¹⁹⁷ realizaron un estudio transversal sobre 198 hombres ancianos, mostrando una correlación positiva entre la ingesta grasa y el FVIIC.

Recientemente, Bowman y cols.¹⁹⁸, en un estudio observacional de casos-contróles con 7433 participantes, describen una fuerte asociación entre los niveles de FVIIC y la ingesta grasa total en mujeres.

Respecto al FVIIa, tan sólo uno de los tres estudios que lo valoran encuentra diferencias, siendo mayor tras la alimentación rica en grasa¹⁹⁹.

¹⁹⁵ Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Fasting blood coagulation and fibrinolysis of young adults unchanged by reduction in dietary fat content. *Arterioscler Thromb* 1992;12(2):201-5

¹⁹⁶ Lindman AS, Muller H, Seljeflot I, Prydz H, Veierod M, Pedersen JI. Effects of dietary fat quantity and composition on fasting and postprandial levels of coagulation factor VII and serum choline-containing phospholipids. *Br J Nutr* 2003;90(2):329-36

¹⁹⁷ Pekkanen J, Mutanen M, Räsänen L, Rauramaa R, Nissinen A. Association of factor VIIc activity with dietary fat and blood lipids among elderly men - The Finnish cohorts of the Seven Countries Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1995;5:149-154

¹⁹⁸ Bowman R, Joosen A, Welch A, et al. Factor VII, blood lipids and fat intake: gene-nutrient interaction and risk of coronary heart disease with the factor VII R353Q polymorphism. *Eur J Clin Nutr* 2008;

Autor	Población	Diseño	FVIIc	FVIIag
Weststrate ¹⁹⁹	120 jóvenes	R	↑	
Millar ²⁰⁰	6 ♂ 26-48 años	RC	↑ 19%	
Marckmann ²⁰¹	9 ♂, 2 ♀ 21-31 años	RC	↑ 13%	↑ 13%
Marckmann ¹⁹⁵	6 ♂, 7 ♀ 21-37 años	RC	ND	
Marckmann ²⁰²	10 ♂, 11 ♀ 53±4 años	RC	↑ 8%	ND
Marckmann ²⁰³	32 ♂	ID	↑ 9%	
Brace ²⁰⁴	17 ♀ Premeno- páusicas	INC	↑ 12%	ND
Lindman ¹⁹⁶	25 ♀ sanas	RC	ND	ND

Tabla 7: Estudios que comparan en adultos sanos la concentración plasmática de FVII basal tras la dieta rica en grasa frente a la pobre en grasa. R= Randomizado; ↑= Aumenta; RC= Randomizado Cruzado; ID= Intervención dietética; INC= Intervención no controlada; FVIIc= Factor VII coagulante; FVIIag= Factor VII antigénico; ND= No diferencias significativas

2.1.2. Efecto del tipo de grasa

Mitropoulos y cols. describieron que la incubación de plasma con micelas conteniendo ácido esteárico (C18:0)

¹⁹⁹ Weststrate JA, van het Hof KH, van den Berg H, et al. A comparison of the effect of free access to reduced fat products or their full fat equivalents on food intake, body weight, blood lipids and fat-soluble antioxidants levels and haemostasis variables. *Eur J Clin Nutr* 1998;52(6):389-95

²⁰⁰ Miller GJ, Martin JC, Webster J, et al. Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity—a predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis* 1986;60(3):269-77

²⁰¹ Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Effects of total fat content and fatty acid composition in diet on factor VII coagulant activity and blood lipids. *Atherosclerosis* 1990;80(3):227-33

²⁰² Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Low-fat, high-fiber diet favorably affects several independent risk markers of ischemic heart disease: observations on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis from a trial of middle-aged Danes. *Am J Clin Nutr* 1994;59(4):935-9

²⁰³ Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Favorable long-term effect of a low-fat/high-fiber diet on human blood coagulation and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb* 1993;13(4):505-11

²⁰⁴ Brace LD, Gittler-Buffa C, Miller GJ, et al. Factor VII coagulant activity and cholesterol changes in premenopausal women consuming a long-term cholesterol-lowering diet. *Arterioscler Thromb* 1994;14(8):1284-9

conduce a la activación de FVII²⁰⁵, fenómeno que no se produce con los AG no saturados²⁰⁶, lo que sugirió que la composición grasa de la dieta podría modular el FVIIc. En un estudio realizado en cinco adultos sanos, la composición de la grasa afectó al FVIIc y al FVIIag²⁰⁷: Se cotejaron dos dietas ricas en distintas grasas (AGS y ácidos grasos monoinsaturados, AGM) con otra pobre en ella y rica en HC, registrando un aumento de FVIIc mayor en la AGS. Posteriormente, varios estudios randomizados cruzados comparan modelos alimentarios con el mismo contenido total de grasa pero diferente composición en AG (Tabla 8). La duración del período de intervención dietética osciló entre 2²⁰⁸ y 16 semanas²⁰⁹. Tres de estos estudios no encontraron efecto sobre FVIIc, FVIIa o FVIIag al cambiar una dieta rica en AGS por una rica en AGM, incluso cuando, en uno de ellos, este cambio suponía un aumento de la cantidad de energía consumida del 10%^{209,210,211}. Sin embargo, Lindman y cols.²¹²

²⁰⁵ Mitropoulos KA, Reeves BE, O'Brien DP, Cooper JA, Martin JC. The relationship between factor VII coagulant activity and factor XII activation induced in plasma by endogenous or exogenously added contact surface. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1993;4:223-34

²⁰⁶ Mitropoulos KA, Esnouf MP. The autoactivation of factor XII in the presence of long-chain saturated fatty acids--a comparison with the potency of sulphatides and dextran sulphate. *Thromb Haemost* 1991;66(4):446-52

²⁰⁷ Mitropoulos KA, Miller GJ, Martin JC, Reeves BE, Cooper J. Dietary fat induces changes in factor VII coagulant activity through effects on plasma free stearic acid concentration. *Arterioscler Thromb* 1994;14:214-22

²⁰⁸ Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Effects of total fat content and fatty acid composition in diet on factor VII coagulant activity and blood lipids. *Atherosclerosis* 1990;80(3):227-33

²⁰⁹ Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atheroscler* 2003;166(1): 73-84

²¹⁰ Foley M, Ball M, Chisholm A, Duncan A, Spears G, Mann J. Should mono- or poly-unsaturated fats replace saturated fat in the diet? *Eur J Clin Nutr* 1992;46:429-36

²¹¹ Roche HM, Zampelas A, Knapper JM, et al. Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism. *Am J Clin Nutr* 1998;68(3):552-60

²¹² Lindman AS, Muller H, Seljeflot I, Prydz H, Veierod M, Pedersen JI. Effects of dietary fat quantity and composition on fasting and postprandial levels of

observaron que los niveles basales de FVIIa y FVIIc en mujeres eran mayores tras una dieta rica en AGS que tras una dieta rica en AG insaturados. Cuando se cotejaron aceites con diferentes relaciones de AGP n-3/n-6 y distintos contenidos en AGM, se observó un descenso de FVIIc tras el consumo de aceite de oliva²¹³. Asimismo, posteriormente, nuestro grupo ha objetivado cómo el paso de una dieta rica en grasa saturada a una dieta mediterránea produjo un descenso de los valores de FVIIa²¹⁴. Del mismo modo, Allman-Farinelli y cols.²¹⁵ describieron, en 15 personas sanas, una disminución del FVIIc basal tras una dieta rica en AGM, aportados principalmente mediante aceite de girasol, en comparación con una dieta rica en AGS.

Siete estudios analizan el efecto del *enriquecimiento de la alimentación* con determinados AG (Tabla 9). Tres de ellos encuentran descenso de FVIIc tras la alimentación rica en esteárico^{216,217,218}, uno de los cuales se acompaña de la

coagulation factor VII and serum choline-containing phospholipids. Br J Nutr 2003;90:329-36

²¹³ Junker R, Kratz M, Neufeld M, et al. Effects of diets containing olive oil, sunflower oil, or rapeseed oil on the hemostatic system. Thromb Haemost 2001;85:280-6

²¹⁴ Gomez P, Fernandez de la Puebla RA, Castro P, et al. Effect of the Mediterranean diet on fasting concentrations of activated factor VII in healthy persons. Rev Esp Cardiol 2005;58(3): 285-9

²¹⁵ Allman-Farinelli MA, Gomes K, Favalaro EJ, Petocz P. A diet rich in high-oleic-acid sunflower oil favorably alters low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and factor VII coagulant activity. J Am Diet Assoc 2005;105:1071-9

²¹⁶ Bladbjerg EM, Tholstrup T, Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Dietary changes in fasting levels of factor VII coagulant activity (FVII:C) are accompanied by changes in factor VII protein and other vitamin K-dependent proteins. Thromb Haemost 1995;73:239-42

²¹⁷ Tholstrup T, Marckmann P, Jespersen J, Sandstrom B. Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids. Am J Clin Nutr 1994;59:371-7

²¹⁸ Kelly FD, Sinclair AJ, Mann NJ, Turner AH, Abedin L, Li D. A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males. Eur J Clin Nutr 2001;55:88-96

disminución del FVIIag²¹⁹. Otro trabajo no advierte diferencias entre los suplementos con esteárico y los AG *trans*²²⁰. Temme y *cols.*²²¹ encontraron una disminución del FVIIam en mujeres, tras el consumo de ácido oleico frente al palmítico y láurico. Cuando se compararon palmítico y mirístico se encontró una pequeña diferencia a favor de este último²²². Allman-Farinelli y *cols.* contrastaron dietas con diferentes cociente linoléico/linoleico, sin observar diferencias significativas²¹⁹.

Autor	Población	Dieta	FVIIc	FVIIag
Marckmann ²⁰⁸	9♂, 2♀ jóvenes	AGS/AGM AGP	ND	ND
Foley ²¹⁰	12♂, 16♀ edad media			
Mitropoulos ²⁰⁷	5 adultos	AGS/AGM HCO	↑6.5% AGM ↑13% AGS	
Junker ²¹³	31♂, 27♀	AGS/Ac Oliva Aceite Girasol/Colza	↓10.6%Oliva	
Silva ²⁰⁹	51 jóvenes	AGS/AGM	ND	ND
Allman-Farinelli ²¹⁵	5♂, 10♀ edad media	AGS/AGM (Ac. Girasol)	↓2% Girasol	
Lindman ²¹²	25♀	AGS/AGI	↑AGS	
Roche ²¹¹	23♂	AGS/Ac. Oliva	ND	
Gómez ²¹⁴	16♂	AGS/Ac. Oliva	FVIIa: ↓65% Oliva	

Tabla 8: Estudios con diseño randomizado cruzado que comparan en personas sanas la concentración plasmática de FVII basal tras dietas con diferente composición en ácidos grasos. FVIIc/a= Factor VII coagulante/activado; AGM= rica en ácidos grasos monoinsaturados; AGP/S/I= rica en AG poliinsaturados/saturados/insaturados; HCO= pobre en grasa y rica en hidratos de carbono; ND= no diferencias significativas

²¹⁹ Allman-Farinelli MA, Hall D, Kingham K, Pang D, Petocz P, Favalaro EJ. Comparison of the effects of two low fat diets with different alpha-linolenic:linoleic acid ratios on coagulation and fibrinolysis. *Atherosclerosis* 1999;142:159-68

²²⁰ Mutanen M, Aro A. Coagulation and fibrinolysis factors in healthy subjects consuming high stearic or trans fatty acid diets. *Thromb Haemost* 1997;77(1):99-104

²²¹ Temme EH, Mensink RP, Hornstra G. Effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1999;81(2):259-63

²²² Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1125-32

Autor	Población	Ács. Grasos	FVIIc	Masa FVII
Bladbjerg 216	15 ♂ jóvenes	S vs P-L	S↓10%	S↓10%
Tholstrup 217	15 ♂ jóvenes	S vs P vs M-L	S↓17%	
Temme 221	14 ♂, 18 ♀	L vs P vs O		O↓9% vs L* O↓10%vsP*
Allman γ 219	29 ♂	ALA:LA=1:1.2 ALA:LA=1:21	ND	
Tholstrup 222	16 ♂ jóvenes	M vs P	P↓2%	
Mutanen 220	80 jóvenes	S vs Trans	ND	
Kelly ²¹⁸	30 ♂	S vs P	S ↓ 9,5%	

Tabla 9: Estudios randomizados cruzados que comparan concentraciones de FVII basales tras dietas suplementadas con diferentes ácidos grasos. ♂ Hombres; ♀ Mujeres; γ Estudio randomizado no cruzado; * Sólo en mujeres; S= Esteárico; M=Mirístico; L=Láurico; M-L=Mirístico-Láurico; P=Palmitico; O=Oleico; ALA=Linolénico; LA=Linoleico; Trans=Ácidos grasos trans; ND= No diferencias significativas

En resumen, las dietas ricas en AGS, que aumentan los niveles de colesterol, tienden a asociarse con concentraciones mayores de factores de coagulación vitamina-K dependientes, aunque no de forma invariable. Éste parece ser el mecanismo más plausible para la relación positiva entre el consumo de grasa total y/o AGS habitual con el FVII (FVIIc y FVIIag) en hombres de mediana edad de Londres^{223,224} y con el FVIIc en los estudios Rotterdam²²⁵ y Siete Países²²⁶.

Por otra parte, se ha descrito la influencia de distintos polimorfismos del gen del FVII sobre la respuesta de sus

²²³ Miller GJ, Cruickshank JK, Ellis L, et al. Fat consumption and factor VII coagulant activity in middle-aged men. An association between a dietary and a thrombogenic risk factor. *Atherosclerosis* 1989;78:19-24

²²⁴ Miller GJ, Stirling Y, Howarth DJ, et al. Dietary fat intake and plasma factor VII antigen concentration. *Thrombosis & Haemostasis* 1995;73(5):893

²²⁵ Mennen LI, Witteman JC, den Breeijen JH, et al. The association of dietary fat and fiber with coagulation factor VII in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr* 1997;65(3):732-6

²²⁶ Pekkanen J, Mutanen M, Rasenen L, et al. Association of factor VIIc activity with dietary fat and blood lipids in elderly men. The Finish cohorts of the Seven Countries Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1995;5:149-54

niveles plasmáticos a dietas con distinta cantidad y composición de grasa. Así, recientemente, en un trabajo de nuestro grupo, Fernández de la Puebla y cols. hallaron que los portadores de determinados genotipos del polimorfismo 5'F7 presentaban niveles de FVIIag más elevados tras el consumo de una dieta rica en AGS que tras el de una dieta mediterránea o una rica en HC²²⁷.

En cuanto a otros marcadores de coagulación, nuestro grupo ha descrito que el tipo grasa de la dieta consumida podría modular la expresión de FT en los monocitos circulantes. Tras un estudio cruzado de intervención dietética, las dietas mediterránea y rica en HC redujeron la expresión de FT en los monocitos circulantes, con respecto a una dieta rica en AGS²²⁸.

2.2. GRASA DE LA DIETA Y FIBRINOLISIS

Los altos niveles de tPAag y PAI-1, medidos tanto en forma de determinación antigénica como de actividad, son factores de riesgo para la enfermedad coronaria y se consideran indicativos de hipofibrinólisis.

2.2.1. Relación *in vitro*

Los AG insaturados incrementan la secreción²²⁹ de PAI-1 y la expresión²³⁰ de su RNA mensajero (mRNA). Nilsson y

²²⁷ Fernandez de la Puebla RA, Perez-Martinez P, Carmona J, et al. Factor VII polymorphisms influence the plasma response to diets with different fat content, in a healthy Caucasian population. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:618-24

²²⁸ Bravo-Herrera MD, Lopez-Miranda J, Marin C, et al. Tissue factor expression is decreased in monocytes obtained from blood during Mediterranean or high carbohydrate diets. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2004;14:128-32

²²⁹ Banfi C, Rise P, Mussoni L, Galli C, Tremoli E. Linoleic acid enhances the secretion of plasminogen activator inhibitor type 1 by HepG2 cells. *J Lipid Res* 1997;38:860-9

*cols.*²³¹ describieron que los AGS palmítico y esteárico no afectan a la expresión y secreción de PAI-1 por las células endoteliales, mientras que el ácido oleico, linoleico, linolénico y eicosapentaenoico (EPA) incrementan su transcripción. Ye y *cols.* observaron que células endoteliales humanas tratadas con AGM y AGP aumentaron la secreción de PAI-1 de forma dependiente de la concentración. Cuando se incrementó el DNA de los receptores activadores de la producción de peroxisomas (PPAR)- α en células endoteliales, se indujo un aumento de la actividad de la región promotora del gen del PAI-1²³², esto es, de la sección de DNA que controla la iniciación de la transcripción del RNA como producto de ese gen. Ihara y *cols.* demostraron que al combinar una tiazolidindiona (potente activador de PPAR γ) con insulina se incrementa la expresión del gen del PAI-1 en los adipocitos²³³. Estos resultados sugieren que los AG insaturados C18 (oleico, linolénico, linoleico) estimulan la expresión y secreción de PAI-1 actuando como ligandos de PPARs.

2.2.2. Relación *in vivo*

Estos estudios *in vitro* predecían que las dietas enriquecidas con AGM y AGP se asociarían con incrementos en los niveles plasmáticos de PAI-1. Sin embargo, la literatura no

²³⁰ Kariko K, Rosenbaum H, Kuo A, Zurier RB, Barnathan ES. Stimulatory effect of unsaturated fatty acids on the level of plasminogen activator inhibitor-1 mRNA in cultured human endothelial cells. *FEBS Lett* 1995;361:118-22

²³¹ Nilsson L, Banfi C, Diczfalusy U, Tremoli E, Hamsten A, Eriksson P. Unsaturated fatty acids increase plasminogen activator inhibitor-1 expression in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1679-85

²³² Ye P, Hu X, Liu Y, Zhao Y. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression. *Chin Med J (Engl)* 2003;116:29-33

²³³ Ihara H, Urano T, Takada A, Loskutoff DJ. Induction of plasminogen activator inhibitor 1 gene expression in adipocytes by thiazolidinediones. *Faseb J* 2001;15:1233-5

es consistente al respecto^{234,235} (Tablas 10 y 11). Algunos estudios aportan evidencias a favor de esta hipótesis^{236,237,238}; otros no encuentran diferencias entre el aporte de las distintas grasas y los parámetros de fibrinólisis^{239,240,241,242}. Marckmann y cols.²⁴³ describieron que el consumo de una dieta rica en HC y fibra durante 2 semanas incrementaba la actividad fibrinolítica dependiente de tPA y el cociente tPA/PAI-1 cuando se comparaba con una dieta rica en AGS, sin cambios en los niveles plasmáticos de tPAag ni PAIag.

Nuestro grupo, en un estudio de intervención con sustitución isocalórica de una dieta rica en ácido palmítico por una dieta mediterránea rica en aceite de oliva en 25 hombres jóvenes sanos, observó que las dos dietas cardioprotectoras

²³⁴ Knapp HR. Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1687S-1698S

²³⁵ Lopez-Miranda J, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, et al. Olive oil and the haemostatic system. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1249-59

²³⁶ Emeis JJ, van Houwelingen AC, van den Hoogen CM, Hornstra G. A moderate fish intake increases plasminogen activator inhibitor type-1 in human volunteers. *Blood* 1989;74:233-7

²³⁷ Oosthuizen W, Vorster HH, Jerling JC, et al. Both fish oils and olive oil lowered plasma fibrinogen in women with high baseline fibrinogen levels. *Thromb Haemost* 1994;72:557-62

²³⁸ Byberg L, Smedman A, Vessby B, Lithell H. Plasminogen activator inhibitor-1 and relations to fatty acid composition in the diet and in serum cholesterol esters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:2086-92

²³⁹ Freese R, Mutanen M. Alpha-linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1997;66(3):591-8

²⁴⁰ Toft I, Bonna KH, Ingebretsen OC, Nordoy A, Jenssen T. Fibrinolytic function after dietary supplementation with omega3 polyunsaturated fatty acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:814-9

²⁴¹ Allman-Farinelli MA, Gomes K, Favaloro EJ, Petocz P. A diet rich in high-oleic-acid sunflower oil favorably alters low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and factor VII coagulant activity. *J Am Diet Assoc* 2005;105:1071-9

²⁴² Mezzano D, Leighton, F. Haemostatic cardiovascular risk factors: differential effects of red wine and diet on healthy young. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:472-8

²⁴³ Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Low-fat, high-fiber diet favorably affects several independent risk markers of ischemic heart disease: observations on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis from a trial of middle-aged Danes. *Am J Clin Nutr* 1994;59:935-9

disminuían los niveles de PAI-1, de forma más pronunciada en la mediterránea²⁴⁴.

Autor	Población	Dieta/ Alimento	Resultados
Emeis ^{236 *}	76 ♂	Pescado vs Carne	tPAag, tPAa ND Pescado: ↑PAI-1a
Oosthuizen ²³⁷	10♂,10♀ jóvenes	Ac. Pescado vs Oliva	2 Acs: ↑PAI-1a, ↓ Fibrinógeno
Allman-Farinelli ²⁴¹	5 ♂, 10 ♀ edad media	AGS/AGM (Ac. Girasol)	PAI-1a ND Fibrinógeno ND
Marckmann ²⁴³	10♂, 11♀ edad media	Dieta Pobre en grasa vs Alta en AGS	Pobre en grasas: ↑ tPAa ↑ tPA/PAI-1
Pérez-Jiménez ²⁴⁴	25♂ jóvenes	Palmítico vs Ac Oliva vs NCEP1	Oliva>Palmítico: ↓PAI-1a Oliva: ↓ TFPI
Avellone ²⁵¹	Rural/Urbana 40♂ 40♀	Rural vs Urbana (<AGP/S y AGM/S)	tPAag ND Rural: ↓PAI-1a
Turpeinen ²⁵²	20♀, 18 ♂ jóvenes	Ácido Oleico vs Linoleico	Fibrinógeno, DD, PAI-1a ND
López-Segura ²⁴⁵	21 ♂ jóvenes	Ac oliva vs NCEP1	Oliva: ↓PAI-1 tPA ND
Junker ²⁴⁶	25 ♂ hipertrigliceridemia	Dietas ricas: 1=AGM y n3 2=HC y fibra	Rica en grasa: ↓PAI-1 ↑ Fibrinógeno
Temme ²⁴⁷	14 ♂ 18 ♀	Suplementos: AGS-laurítico AGS-mirístico AGM-oliva	PAI-1a: Oliva<Palmítico Fibrinógeno ND

Tabla 10: Estudios randomizados cruzados sobre la relación *in vivo* de la grasa de la dieta con la fibrinólisis en situación basal.

* = No randomizado; ♂ = Hombres; ♀ = Mujeres; ↑ = Aumento; ↓ = Descenso; ND = no diferencias significativas; Ac = Aceite; tPA(a/ag) = Activador del plasminógeno tisular (actividad/antígeno); PAI-1(a) = Inhibidor del plasminógeno activado tipo 1 (actividad); TFPI = Inhibidor de la vía del factor tisular; AGS/P/M = Ácidos grasos saturados/ poliinsaturados/ monoinsaturados; NCEP1 = Dieta del National Cholesterol Panel paso 1 (rica en hidratos de carbono); DD = Dímero D

²⁴⁴ Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145(2):351-8

²⁴⁵ Lopez-Segura F, Velasco F, Lopez-Miranda J, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16(1): 82-8

²⁴⁶ Junker R, Pieke B, Schulte H, et al. Changes in hemostasis during treatment of hypertriglyceridemia with a diet rich in monounsaturated and n-3 polyunsaturated fatty acids in comparison with a low-fat diet. *Thromb Res* 2001;101:355-66

²⁴⁷ Temme EH, Mensink RP, Hornstra G. Effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1999;81(2):259-63

Autor	Población	Dieta/Alimento	Resultados
Hansen ²⁵³	224 ♂ edad media	Suplementos EPA+DHA vs placebo	PAI-1a ND
Niskanen ²⁵⁴	11 ♀, 17 ♂ Int. Glucosa	AGM vs NCEP1	Fibrinógeno ND PAI-1a ND
Toft ²⁴⁸	50 ♂, 28 ♀ hipertensos	Ac.Pescado vs Maíz	PAI-1a, tPAa ND
Freese ²⁵⁵	17 ♂, 29 ♀ 20-44 años	Ac.Linaza vs Pescado+Girasol (EPA+DHA)	PAI-1a, TxA2, Fibrinógeno ND
Trifiletti ²⁵⁹	30 ♂, 14 ♀ hipertensos	Ac Oliva vs Ac soja vs Dieta AGS	Oliva>Soja: ↓PAI-1ag vs AGS
Mezzano ²⁴²	42 ♂ jóvenes	DM vs Dieta AGS 30d:+vino tinto	Ambas: ↓PAI-1 +vino: ↑PAI-1
Weststrate ²⁴⁹	120 jóvenes	Alimentos Alto vs Bajo contenido en grasa	Bajo en grasa: ↓PAI-1 Fibrinógeno ND
Mutanen ²⁵⁰	80 jóvenes	Suplementos AGS: Esteárico vs <i>Trans</i>	PAI-1a, tPA ND Esteárico: ↑ Fibrinógeno

Tabla 11: Estudios randomizados no cruzados sobre la relación in vivo de la grasa de la dieta con la fibrinólisis en situación basal.

♂ = Hombres; ♀ = Mujeres; ND= no diferencias significativas; Ac= Aceite; tPA(a)= Activador del plasminógeno tisular (actividad); PAI-1(a)= Inhibidor del plasminógeno activado tipo 1 (actividad); Int.= Intolerancia; TxA2= Tromboxano A2; EPA= Ácido eicosapentaenoico; DHA= Ácido docosahexaenoico; AGS= Ácidos grasos saturados; AGM= Ácidos grasos monoinsaturados; NCEP1= Dieta del National Cholesterol Pannel paso 1 (rica en hidratos de carbono); DM= Dieta Mediterránea (alto contenido en verduras y pescado, aceite de oliva: 32 mL/día); Trans= Ácidos grasos *trans*

Los efectos beneficiosos de la Dieta Mediterránea sobre la hemostasia se confirmaron posteriormente en un estudio de intervención poblacional que comparó los efectos de la sustitución de una dieta urbana por una dieta mediterránea rural. La primera era significativamente más rica en proteínas,

²⁴⁸ Toft I, Bona KH, Ingebretsen OC, Nordoy A, Jenssen T. Fibrinolytic function after dietary supplementation with omega3 polyunsaturated fatty acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:814-9

²⁴⁹ Weststrate JA, van het Hof KH, van den Berg H, et al. A comparison of the effect of free access to reduced fat products or their full fat equivalents on food intake, body weight, blood lipids and fat-soluble antioxidants levels and haemostasis variables. *Eur J Clin Nutr* 1998;52(6):389-95

²⁵⁰ Mutanen M, Aro A. Coagulation and fibrinolysis factors in healthy subjects consuming high stearic or trans fatty acid diets. *Thromb Haemost* 1997;77(1):99-104

colesterol y grasa, sobre todo AGS y más pobre en HC y fibra. Los índices de AGP/S y AGM/S eran significativamente menores en las muestras urbanas. Se intercambiaron las dietas habituales de las poblaciones. 8 semanas después de la intervención y de volver a su dieta habitual se midieron distintos parámetros hemostáticos basales. El consumo de la dieta mediterránea indujo una disminución de los niveles plasmáticos de PAI-1 y FVII en hombres y mujeres. Los dos grupos volvieron a los niveles basales cuando cambiaron a sus dietas originales²⁵¹.

En contraste con los efectos beneficiosos de la sustitución de una dieta rica en AGS por AGM, los efectos comparativos de dos dietas insaturadas (una enriquecida con ácido linoleico y otra con oleico) demostró un efecto similar sobre los niveles plasmáticos de PAI-1 en un estudio de intervención en dos fases en 38 personas sanas²⁵². Asimismo, Hansen y *cols.* no observaron, tras la adición de suplementos dietéticos de AGP n3 (EPA y DHA) ningún efecto sobre la actividad del PAI-1²⁵³. Además, Niskanen y *cols.*²⁵⁴ tampoco consiguieron demostrar en sujetos con intolerancia oral a glucosa un descenso de los niveles de PAI-1 tras una dieta rica en AGM o una pobre en grasa. Por otra parte, en el estudio realizado por Freese y *cols.*, el consumo a largo plazo de una dieta rica en AGP (ácido linolénico o aceite de pescado)

²⁵¹ Avellone G, Di Garbo V, Abruzzese G, et al. Cross-over study on effects of Mediterranean diet in two randomly selected population samples. *Nutr Res* 2003;23:1329-1339

²⁵² Turpeinen AM, Mutanen M. Similar effects of diets high in oleic or linoleic acids on coagulation and fibrinolytic factors in healthy humans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999;9(2):65-72

²⁵³ Hansen J, Grimsgaard S, Nordoy A, Bonna KH. Dietary supplementation with highly purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid does not influence PAI-1 activity. *Thromb Res* 2000;98:123-32

²⁵⁴ Niskanen L, Schwab US, Sarkkinen ES, Krusius T, Vahtera E, Uusitupa MI. Effects of dietary fat modification on fibrinogen, factor VII, and plasminogen

no demostró ningún efecto sobre la actividad del PAI-1 o el tPA²⁵⁵. Es más, la administración de una dieta rica en AG n-3 ha demostrado un incremento en los niveles de PAI-1 en plasma, tanto en personas sanas como diabéticas, correlacionado con un aumento de TG, lo que sugiere un empeoramiento de la actividad fibrinolítica^{256,257}.

Es interesante observar cómo se han encontrado resultados discrepantes incluso al analizar el efecto sobre el PAI-1 de aceites ricos en AGM de distintos orígenes. Esto hace sospechar que el descenso del PAI-1 tras el consumo de aceite de oliva puede depender no sólo de su componente graso, sino, además, de sus micronutrientes^{258,259,260,261}. Además, nuestro grupo observó que una dieta rica en AGM no sólo reducía el PAIag y PAIa, sino también los niveles basales de insulina²⁶². Se ha demostrado que la incubación de células hepáticas y endoteliales con insulina estimula la producción de

activator inhibitor-1 activity in subjects with impaired glucose tolerance. *Metabolism* 1997;46:666-72

²⁵⁵ Freese R, Mutanen M. Alpha-linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1997;66(3):591-8

²⁵⁶ Marckmann P, Jespersen J, Leth T, Sandstrom B. Effect of fish oil versus meat diet on blood lipids, coagulation and fibrinolysis in healthy young men. *J Intern Med* 1991; 229:317-23

²⁵⁷ Spannagl M, Drummer C, Froschl H, et al. Plasmatic factors of haemostasis remain essentially unchanged except for PAI activity during n-3 fatty acid intake in type I diabetes mellitus. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991;2:259-65

²⁵⁸ Perez-Jimenez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Lopez-Segura F, Lopez-Miranda J. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1199-208

²⁵⁹ Trifiletti A, Scamardi R, Gaudio A, Lasco A, Frisina N. Hemostatic effects of diets containing olive or soy oil in hypertensive patients. *J Thromb Haemost* 2005;3:179-80

²⁶⁰ Avellone G, Cordova R, Scalfidi L, Bompiani G. Effects of Mediterranean diet on lipid, coagulative and fibrinolytic parameters in two randomly selected population samples in Western Sicily. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1998:287-96

²⁶¹ Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145:351-8

²⁶² Lopez-Segura F, Velasco F, Lopez-Miranda J, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16(1): 82-8

PAI-1, estabilizando su mRNA^{263,264}. La insulina podría, de este modo, modular el impacto de los AG en la producción del PAI-1²⁶⁵.

Por otra parte, la respuesta individual del PAI-1 a las distintas grasas de la dieta parece estar modulada por las diferencias presentes en el polimorfismo del gen que lo codifica. Así, en un trabajo reciente de nuestro grupo, Perez-Martinez y *cols.*²⁶⁶ describen cómo los portadores de un determinado alelo (4G) presentan una mayor respuesta a la ingesta de una dieta rica en AGM, con una mayor disminución de los niveles de PAI-1 que los portadores de otros alelos.

2.3. GRASA DE LA DIETA Y FUNCIÓN PLAQUETARIA

La ingesta de AG n-3 podría influir sobre la hemostasia, no sólo prolongando el tiempo de sangrado, sino también mejorando la flexibilidad eritrocitaria y reduciendo la agregación plaquetaria^{267,268}. Sin embargo, la influencia de otros AG insaturados como AGP n-6 o AGM es menos conocida. Sirtori y *cols.* describieron una reducción de la sensibilidad de las plaquetas al colágeno durante el consumo de una dieta rica en aceite de oliva, mientras que la

²⁶³ Fatal P, Schneider DJ, Sobel BE, Billadello JJ. Post-transcriptional regulation of expression of plasminogen activator inhibitor type 1 in mRNA by insulin and insuline-like growth factor. *J Biol Chem* 1992;267:12412-5

²⁶⁴ Schneider DJ, Nordt TK, Sobel BE. Stimulation by proinsulin of expression of plasminogen activator inhibitor type-I in endothelial cells. *Diabetes* 1992;41:890-5

²⁶⁵ Ihara H, Urano T, Takada A, Loskutoff DJ. Induction of plasminogen activator inhibitor 1 gene expression in adipocytes by thiazolidinediones. *Faseb J* 2001;15:1233-5

²⁶⁶ Perez-Martinez P, Adarraga-Cansino MD, Fernandez de la Puebla RA, et al. The -675 4G/5G polymorphism at the Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) gene modulates plasma Plasminogen Activator Inhibitor 1 concentrations in response to dietary fat consumption. *Br J Nutr* 2008;99:699-702

²⁶⁷ Knapp HR. Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1687S-1698S

²⁶⁸ Schmidt EB, Varming K, Ernst E, Madsen P, Dyerberg J. Dose-response studies on the effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on lipids and haemostasis. *Thromb Haemost* 1990;63:1-5

sensibilidad al ácido araquidónico disminuyó con una dieta rica en aceite de maíz²⁶⁹. Estos hallazgos han sido confirmados más recientemente por Smith y cols.²⁷⁰, comparando dos dietas con diferente contenido de AGM (alto vs moderado) y una rica en AGS. A las 8 y 16 semanas, la respuesta de agregación de las plaquetas a ADP fue significativamente más baja en las dietas con AGM que en la de AGS y, entre aquéllas, en las de mayor contenido en AGM. En otro estudio se comprobó *in vitro* la mayor capacidad para inhibir la agregación de plaquetas de fracciones lipídicas de aceite de oliva frente a aceites de otras semillas (soja, maíz, girasol y sésamo)²⁷¹. Además, en un estudio en ratas, las que recibieron una alimentación rica en aceite de oliva mostraron enlentecimiento en la estenosis del cayado aórtico, menor incidencia de trombosis venosa y un tiempo de sangrado alargado en comparación con el grupo que consumió una dieta normal²⁷². Por otra parte, un estudio evaluó el efecto de suplementar con aceite de oliva virgen una dieta aterogénica en un modelo de conejos. Los animales alimentados con la dieta con aceite de oliva, comparados con el grupo de la dieta rica en AGS, presentaron un descenso en la hiperactividad de las plaquetas y en la trombogenicidad subendotelial²⁷³.

²⁶⁹ Sirtori CR, Tremoli E, Gatti E, et al. Controlled evaluation of fat intake in the Mediterranean diet: comparative activities of olive oil and corn oil on plasma lipids and platelets in high-risk patients. *Am J Clin Nutr* 1986;44:635-42

²⁷⁰ Smith RD, Kelly CN, Fielding BA, et al. Long-term monounsaturated fatty acid diets reduce platelet aggregation in healthy young subjects. *Br J Nutr* 2003;90:597-606

²⁷¹ Karantonis HC, Antonopoulou S, Demopoulos CA. Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others. *J Agric Food Chem* 2002;50:1150-60

²⁷² Brzosko S, De Curtis A, Murzilli S, de Gaetano G, Donati MB, Iacoviello L. Effect of extra virgin olive oil on experimental thrombosis and primary hemostasis in rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002;12:337-42

²⁷³ De La Cruz JP, Villalobos MA, Carmona JA, Martín-Romero M, Smith-Agreda JM, de la Cuesta FS. Antithrombotic potential of olive oil

El ácido eicosatrienoico es un AG n-9, que puede ser sintetizado a partir de ácido oleico. Un aumento en el aporte de ácido oleico podría disminuir las propiedades proinflamatorias de los eicosanoides. Además, aunque su efecto sobre la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa aún no se ha establecido, los AG derivados del ácido oleico podrían también inhibir la síntesis de TXB₂ y prostaglandina E₂ (PG-E₂), dando lugar a una situación similar a la producida por la ingesta de AG n-3 de cadena larga provenientes del aceite de pescado^{274,269}. Esto podría explicar los resultados expuestos por Sirtori y cols. en el estudio ya citado, donde disminuyó la producción de TXB₂ en las muestras de plaquetas obtenidas durante la ingesta de aceite de oliva, pero no así en la de aceite de maíz²⁶⁹. Asimismo, en un estudio con ratas, la administración de aceite de oliva indujo un decremento en los niveles de TXB₂ plasmático²⁷⁵. Lahoz y cols.²⁷⁶ publicaron, en un ensayo de intervención con 4 dietas con diferentes composiciones grasas (AGS, AGM, AGP n-6 y AGP n-3) durante 5 semanas, un descenso en la excreción de un metabolito del TXB₂ durante la fase de AGM comparada con la de n-6, lo que sugiere que el contenido en AGM de la dieta tiene un efecto en el metabolismo de los eicosanoides.

El aceite de oliva contiene, además de AG, otros componentes menores, entre los que destacan los polifenoles. Varios estudios sugieren que los polifenoles juegan un

administration in rabbits with elevated cholesterol. *Thromb Res* 2000;100:305-15

²⁷⁴ Lerner R, Lindstrom P, Berg A, Johansson E, Rosendahl K, Palmblad J. Development and characterization of essential fatty acid deficiency in human endothelial cells in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:1147-5

²⁷⁵ Navarro MD, Hortelano P, Periago JL, Pita ML. Effect of dietary olive and sunflower oils on the lipid composition of the aorta and platelets and on blood eicosanoids in rats. *Arterioscler Thromb* 1992;12:830-5

²⁷⁶ Lahoz C, Alonso R, Ordovas JM, Lopez-Farre A, de Oya M, Mata P. Effects of dietary fat saturation on eicosanoid production, platelet aggregation and blood pressure. *Eur J Clin Invest* 1997;27:780-7

importante papel en la modulación de la producción de eicosanoides y, por tanto, en la activación plaquetaria^{277,278}.

El consumo de AGM y AGP n-3 tanto de origen vegetal como de pescado es característico de la Dieta Mediterránea, y esta mezcla puede tener efectos beneficiosos que van más allá del consumo de cada uno por separado. En este sentido, la ingesta combinada de aceite de oliva y de bacalao ha demostrado relacionarse con una menor producción de TXB₂ que la de cada aceite por separado²⁷⁹. Además, una dieta con alto contenido en AGM y AGP n-3 de origen marino induce un significativo descenso de factores de coagulación (FIIc, FIXc, FXc, FVIIc, FVIIa), PAI-1, viscosidad del plasma y actividad plaquetaria, pero produce un incremento en el fibrinógeno, cuando se compara con una dieta rica en HC baja en grasas y rica en fibra²⁸⁰.

Un componente de la coagulación asociado con la formación de trombos plaquetarios es el FvWF. Se ha observado una disminución en los niveles plasmáticos de FvWF tras el consumo de una dieta rica en AGM, tanto en

²⁷⁷ Oubina P, Sanchez-Muniz FJ, Rodenas S, Cuesta C. Eicosanoid production, thrombogenic ratio, and serum and LDL peroxides in normo- and hypercholesterolaemic post-menopausal women consuming two oleic acid-rich diets with different content of minor components. *Br J Nutr* 2001;85:41-7

²⁷⁸ Togna GI, Togna AR, Franconi M, Marra C, Guiso M. Olive oil isochromans inhibit human platelet reactivity. *J Nutr* 2003;133:2532-6

²⁷⁹ Vognild E, Elvevoll EO, Brox J, et al. Effects of dietary marine oils and olive oil on fatty acid composition, platelet membrane fluidity, platelet responses, and serum lipids in healthy humans. *Lipids* 1998;33:427-36

²⁸⁰ Junker R, Pieke B, Schulte H, et al. Changes in hemostasis during treatment of hypertriglyceridemia with a diet rich in monounsaturated and n-3 polyunsaturated fatty acids in comparison with a low-fat diet. *Thromb Res* 2001;101:355-66

pacientes diabéticos tipo 2²⁸¹ como en jóvenes sanos normolipémicos²⁸².

3.-INGESTA AGUDA DE GRASA Y HEMOSTASIA

La mayoría del conocimiento sobre la relación entre el metabolismo de lipoproteínas, el desarrollo de la arteriosclerosis y la ECV se basa en determinaciones basales. Un patrón de alimentación típico occidental incluye 3 comidas al día. Cuando se consume cada una de ellas, los TG plasmáticos aún no han retornado a su situación basal tras la anterior ingesta. Así, las personas se encuentran la mayor parte del día en situación postprandial, con una continua fluctuación del grado de lipemia. El estado postprandial es una situación dinámica, con un remodelado rápido de lipoproteínas, comparado con el estado basal, relativamente estable. En este período se absorben los nutrientes digeridos y se producen una serie de cambios metabólicos para su incorporación a los tejidos hepático, adiposo y muscular. Complejos moleculares, proteínas transportadoras, enzimas, receptores y reguladores transcripcionales interaccionan en complejas redes, que son controlados por sistemas hormonales específicos para optimizar la vehiculización y utilización de las grasas procedentes de la alimentación. A este fenómeno se le denomina lipemia postprandial y cada vez es más evidente su importancia en la aterogénesis²⁸³.

²⁸¹ Rasmussen O, Thomsen C, Ingerslev J, Hermansen K. Decrease in von Willebrand factor levels after a high-monounsaturated-fat diet in non-insulin-dependent diabetic subjects. *Metabolism* 1994;43:1406-9

²⁸² Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145:351-8

²⁸³ Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr* 2007;98:458-73

3.1. METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS RICAS EN TRIGLICÉRIDOS POSTPRANDIALES

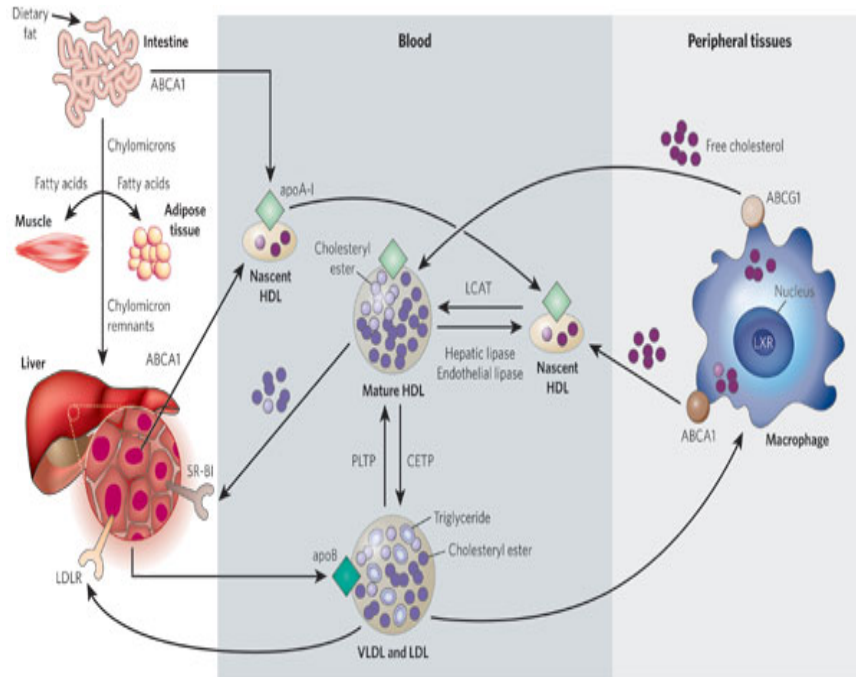


Figura 5. Metabolismo de las lipoproteínas

Extraído de: Rader DJ, Daugherty A. Nature 2008;451:904-913

Tras la absorción de las grasas de la dieta, los AG de cadena corta y media se unen a albúmina y son transportados directamente al hígado. Los de cadena larga son reesterificados en el enterocito, formando TG que, ensamblados junto a apoB-48, dan lugar a grandes quilomicrones (Qm), forma en la que circulan en el plasma²⁸⁴. En la superficie de las células endoteliales los Qm interactúan con la lipoproteína lipasa (LPL). Ésta, estimulada por la insulina, hidroliza el 90% de los TG en AG y monoacilglicéridos, que son internalizados principalmente por adipocitos para depósito y por el tejido muscular para su

oxidación. El 10% restante da lugar unas partículas más pequeñas, los remanentes de quilomacrón (RQm) que vuelven a la circulación. La proteína predominante en ellos es la apolipoproteína E (apoE), que media su captación hepática. Tras unirse a su receptor, los RQm son internalizados en las células y se degradan en los lisosomas.

En el postprandio también se sintetizan en el hepatocito las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), partículas lipídicas más pequeñas. En ellas, junto a apoproteína B-100, parte de los AG de la hidrólisis de los Qm llegan de nuevo al torrente sanguíneo. Aquí siguen un camino similar a los Qm, compitiendo con éstos por la LPL endotelial para su hidrólisis, con formación de remanentes de VLDL. En todo el proceso, las distintas lipoproteínas interaccionan entre sí, intercambiando apoproteínas y ésteres de colesterol por acción de la proteína transferidora de ésteres de colesterol, alterando su concentración y composición. Las partículas ricas en TG compiten por los mismos receptores y LPL. Los Qm tienen más moléculas de TG por partícula que las VLDL, por lo que la interacción de aquéllos con la LPL produce una hidrólisis más eficiente, con liberación de más cantidad de AG. Si esto se prolonga y/o disminuye su capacidad de aclaramiento de la sangre, las interacciones con el resto de lipoproteínas se harán más probables, favoreciendo la aparición de modificaciones de tamaño, composición y naturaleza de sus componentes que las harán más aterogénicas: aumento de la cantidad de partículas ricas en TG, las HDL y LDL pequeñas y enriquecimiento en TG de las HDL²⁸⁵.

²⁸⁴ Hyson D, Rutledge JC, Berglund L. Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003;5(6):437-44

²⁸⁵ Krauss RM. Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipidol* 1994; 5(5): 339-49

Se han descrito numerosos factores asociados a una lipemia postprandial más acusada o prolongada, entre ellos: mayor edad²⁸⁶, ser hombre²⁸⁷ o mujer postmenopáusicas²⁸⁸, un modelo de alimentación pobre en AGP n-3²⁸⁹, el tipo de alimentos ingeridos (alcohol²⁹⁰, glucosa²⁹¹, fibra²⁹²), el sedentarismo²⁹³. También se observa una lipemia postprandial más prolongada en personas con hipertrigliceridemia en ayunas²⁹⁴, obesidad²⁹⁵, diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a

²⁸⁶ Jackson KG, Knapper-Francis JM, Morgan LM, Webb DH, Zampelas A, Williams CM. Exaggerated postprandial lipaemia and lower post-heparin lipoprotein lipase activity in middle-aged men. *Clin Sci (Lond)* 2003;105:457-66

²⁸⁷ Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, et al. Gender difference in postprandial lipemia: importance of visceral adipose tissue accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(10): 2448-55

²⁸⁸ van Beek AP, de Ruijter-Heijstek FC, Erkelens DW, de Bruin TWA. Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(11):2737-41

²⁸⁹ Westphal S, Orth M, Ambrosch A, Osmundsen K, Luley C. Postprandial chylomicrons and VLDLs in severe hypertriglycerolemia are lowered more effectively than are chylomicron remnants after treatment with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2000;71:914-20

²⁹⁰ Fielding BA, Reid G, Grady M, Humphreys SM, Evans K, Frayn KN. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr* 2000;83:597-604

²⁹¹ Cohen JC, Berger GM. Effects of glucose ingestion on postprandial lipemia and triglyceride clearance in humans. *J Lipid Res* 1990;31:597-602

²⁹² Lia A, Andersson H, Mekki N, Juhel C, Senft M, Lairon D. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr* 1997;66:357-65

²⁹³ Weintraub MS, Rosen Y, Otto R, Eisenberg S, Breslow JL. Physical exercise conditioning in the absence of weight loss reduces fasting and postprandial triglyceride-rich lipoprotein levels. *Circulation* 1989;79:1007-14

²⁹⁴ Nozaki S, Garg A, Vega GL, Grundy SM. Postheparin lipolytic activity and plasma lipoprotein response to omega-3 polyunsaturated fatty acids in patients with primary hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr* 1991;53:638-42

²⁹⁵ Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, et al. Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes* 1998;47:953-60

la insulina²⁹⁶, ECV²⁹⁷ y ciertos polimorfismos en genes de apolipoproteínas (E²⁹⁸, A-I²⁹⁹, A-IV³⁰⁰) y enzimas (LPL³⁰¹).

3.2. RELACIÓN ENTRE LIPEMIA POSTPRANDIAL Y ARTERIOSCLEROSIS

La potencial aterogenicidad de los niveles postprandiales de TG y lipoproteínas ricas en TG (TRL) no fue contemplada hasta que Zilversmit³⁰² en 1979 sugirió que tras la hidrólisis de los Qm por la LPL los RQm son internalizados en las células musculares lisas arteriales. Actualmente, disponemos de evidencias que sostienen una asociación entre lipemia postprandial y aterosclerosis, proporcionadas por ensayos clínicos y estudios sobre los efectos de las TRL en modelos animales y cultivos celulares.

3.2.1. Estudios clínicos

Varios estudios de casos y controles muestran una eliminación retardada de TRL postprandiales asociada a la

²⁹⁶ Haffner SM. Lipoprotein disorders associated with type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Am J Cardiol* 2002;90:55i-61i

²⁹⁷ Groot PH, van Stiphout WA, Krauss XH, et al. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:653-6

²⁹⁸ Dallongeville J, Tiret L, Visvikis S, et al. Effect of apo E phenotype on plasma postprandial triglyceride levels in young male adults with and without a familial history of myocardial infarction: the EARS II study. *European Atherosclerosis Research Study. Atherosclerosis* 1999;145:381-8

²⁹⁹ Marin C, Lopez-Miranda J, Gomez P, et al. Effects of the human apolipoprotein A-I promoter G-A mutation on postprandial lipoprotein metabolism. *Am J Clin Nutr* 2002;76:319-25

³⁰⁰ Ostos MA, Lopez-Miranda J, Marin C, et al. The apolipoprotein A-IV-360His polymorphism determines the dietary fat clearance in normal subjects. *Atherosclerosis* 2000;153:209-17

³⁰¹ Mero N, Suurinkeroinen L, Syvanne M, Knudsen P, Yki-Jarvinen H, Taskinen MR. Delayed clearance of postprandial large TG-rich particles in normolipidemic carriers of LPL Asn291Ser gene variant. *J Lipid Res* 1999;40:1663-70

³⁰² Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-85

presencia de EC^{297,303,304,305,306,307}. Asimismo, cuatro estudios de intervención dietética evidencian la relación entre la lipemia postprandial prolongada y la arteriosclerosis carotídea^{308,309,310,311}. También se ha descrito la asociación entre la respuesta lipémica postprandial y la progresión de arteriosclerosis en pacientes con EC conocida³¹².

En un subconjunto del Multiple Risk Factor Intervention Trial, con un seguimiento de 25 años, la elevación de TG, tanto en estado basal como postprandial, tuvieron similar valor predictivo para la EC (riesgo relativo (RR) 1.64 y 1.46, respectivamente), proponiéndose como práctica clínica la

³⁰³ Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb* 1992;12(11):1336-4

³⁰⁴ Meyer E, Westerveld HT, de Ruyter-Meijstek FC, et al. Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis* 1996;124(2):221-35

³⁰⁵ Ginsberg HN, Jones J, Blamer WS, et al. Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with newly diagnosed exercise-induced myocardial ischemia in middle-aged men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1829-38

³⁰⁶ Uiterwaal CS, Grobbee DE, Witteman JC, et al. Postprandial triglyceride response in young adult men and familial risk for coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med* 1994;121:576-83

³⁰⁷ Tiret L, Gerdes C, Murphy MJ, et al. Postprandial response to a fat tolerance test in young adults with a paternal history of premature coronary heart disease - the EARS II study (European Atherosclerosis Research Study). *Eur J Clin Invest* 2000;30:578-85

³⁰⁸ Ryu JE, Howard G, Craven TE, Bond MG, Hagaman AP, Crouse JR, 3rd. Postprandial triglyceridemia and carotid atherosclerosis in middle-aged subjects. *Stroke* 1992;23:823-8

³⁰⁹ Karpe F, de Faire U, Mercuri M, Bond MG, Hellenius ML, Hamsten A. Magnitude of alimentary lipemia is related to intima-media thickness of the common carotid artery in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1998;141:307-14

³¹⁰ Boquist S, Ruotolo G, Tang R, et al. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation* 1999;100(7):723-8

³¹¹ Hamsten A, Silveira A, Boquist S, et al. The apolipoprotein CI content of triglyceride-rich lipoproteins independently predicts early atherosclerosis in healthy middle-aged men. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1013-7

³¹² Phillips NR, Waters D, Havel RJ. Plasma lipoproteins and progression of coronary artery disease evaluated by angiography and clinical events. *Circulation* 1993;88:2762-70

determinación no basal, por ser más sencilla³¹³. En hombres, la presencia de EC se asocia con concentraciones plasmáticas postprandiales de TG más elevadas comparados con controles sanos, incluso tras la corrección por los niveles más elevados de TG basales en el grupo de EC^{297,303,304,309}. En mujeres existen menos trabajos y, a veces, los resultados son discrepantes^{304,305}. Los estudios que utilizan el grosor de la íntima-media sugieren una relación entre el metabolismo postprandial y las manifestaciones precoces de la arteriosclerosis³⁰⁸⁻³¹¹. Sin embargo, queda sin resolver si la lipemia postprandial prolongada predice el riesgo de EC o si la presencia de EC provoca la alteración de los TRL postprandiales. A este respecto, un estudio cruzado demostró que los hijos de hombres con EC presentaban un incremento significativo de los TG plasmáticos tras 8, 10 y 12 horas de una sobrecarga grasa, comparados con hijos de hombres sin EC³⁰⁶. En otro trabajo de casos-contróles, jóvenes con o sin historia paterna de EC fueron sometidos a un estudio de lipemia postprandial. Se observó una respuesta postprandial más prolongada entre los casos que presentaban una moderada hipertrigliceridemia basal³⁰⁷.

En *The Montreal Heart Study*, en el que participaron 335 hombres y mujeres con EC moderada-extensa, los niveles de VLDL, lipoproteínas de densidad intermedia y colesterol en remanentes se correlacionaron de forma positiva con la progresión de EC mediante angiografía. Tras un seguimiento de 4 a 6 años, las concentraciones de colesterol en los remanentes se correlacionaron con eventos clínicos de EC. Es interesante señalar que el LDL no se relacionó ni con las

³¹³ Eberly LE, Stamler J, Neaton JD. Relation of triglyceride levels, fasting and nonfasting, to fatal and nonfatal coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2003;163:1077-83

lesiones ni con la clínica de EC. Sin embargo, la determinación de la concentración de colesterol en remanentes es muy laboriosa y puede ser imprecisa, por lo que pocos trabajos han estudiado el efecto independiente de los remanentes de TRL en el riesgo de EC³¹².

Más recientemente, se han publicado los resultados de tres estudios con un importante número de participantes y un prolongado seguimiento, en los que se ha descrito la relación entre los niveles de TG postprandiales y la presencia de ECV. En el trabajo de Bansal y cols.³¹⁴, tras el seguimiento de una cohorte de mujeres norteamericanas inicialmente sanas (*The Women's Health Study*), los niveles de TG postprandiales mostraron una fuerte asociación con la incidencia de eventos cardiovasculares, de forma independiente de los FRCV tradicionales, niveles de otros lípidos y de marcadores de resistencia a la insulina. La concentración de TG basales, sin embargo, mostró sólo una pequeña independencia de los otros marcadores. Por su parte, Nordestgaard y cols.³¹⁵, en *The Copenhagen City Heart Study*, siguieron a una cohorte de población general danesa (7587 mujeres y 6394 hombres de 20 a 93 años) durante una media de 26 años. En ella, los niveles elevados de TG postprandiales se asociaron con un incremento del riesgo de IAM, EC y muerte. Por último, Freiberg y cols.³¹⁶ analizaron un estudio transversal extraído de esta misma cohorte danesa, encontrando asociación entre

³¹⁴ Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *Jama* 2007;298:309-16

³¹⁵ Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *Jama* 2007;298:299-308

³¹⁶ Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *Jama* 2008;300:2142-52

los niveles de TG postprandiales y el riesgo de ictus isquémico.

Karpe³¹⁷ sugiere que las concentraciones elevadas de TG en el postprandio tardío de una ingesta grasa podrían revelar una situación de intolerancia grasa relacionada con un riesgo elevado de EC sometida a control genético, que no puede detectarse con una simple medida de los TG en situación basal. Sin embargo, aún se necesitan más estudios para determinar el efecto que las fracciones específicas de TRL y el mecanismo subyacente de conexión entre la lipemia postprandial y la aterosclerosis.

3.2.2. Efectos proaterogénicos de las lipoproteínas ricas en triglicéridos

Los estudios diseñados para establecer la aterogenicidad directa de las TRL postprandiales se han centrado en su interacción con el endotelio arterial, penetración en el espacio subintimal e interacción con monocitos-macrófagos y otros componentes del desarrollo de la lesión aterosclerótica. En diversos ensayos con cultivos celulares, las TRL y los productos de su lipólisis, incluido los AG, muestran efecto tóxico directo sobre las células endoteliales³¹⁸, mientras que las HDL las protegen del daño. Además, aumentan la permeabilidad celular a las LDL circulantes^{319,320}, aunque *in vivo* parece que este efecto se atenúa por la presencia de albúmina.

³¹⁷ Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. J Intern Med 1999;246:341-55

³¹⁸ Speidel MT, Booyse FM, Abrams A, Moore MA, Chung BH. Lipolyzed hypertriglyceridemic serum and triglyceride-rich lipoprotein cause lipid accumulation in and are cytotoxic to cultured human endothelial cells. High density lipoproteins inhibit this cytotoxicity. Thromb Res 1990;58:251-64

³¹⁹ Hennig B, Shasby DM, Spector AA. Exposure to fatty acid increases human low density lipoprotein transfer across cultured endothelial monolayers. Circ Res 1985;57:776-80

3.2.2.1 Efectos sobre la función endotelial

A) Vasorreactividad

Evidencias clínicas demuestran que las TRL postprandiales afectan al endotelio mediante cambios en el tono vascular. En hombres jóvenes, tras el consumo de una comida grasa³²¹ o la infusión de una emulsión de lípidos³²², se observa una reducción de la vasodilatación en la arteria braquial que se correlaciona con los TG plasmáticos postprandiales. Se ha propuesto que los efectos de las TRL sobre el tono endotelial están mediados, en parte, por un descenso en la producción de NO, ya sea por efecto las propias partículas de TRL o por las LDLox asociadas con el período postprandial^{317,323}. Las LDLox reducen la vasodilatación dependiente del endotelio en personas sanas, al reducir la vida media del mRNA de la sintasa de NO, la biodisponibilidad de NO y las concentraciones de GMPc intracelular. También disminuyen los efectos de la bradiquinina³²⁴ y la secreción de endotelina-1³²⁵. Por otra parte, el consumo de L-arginina atenúa la disfunción endotelial postprandial, posiblemente gracias al aumento de disponibilidad de NO³²⁶. Es más, parece que las partículas

³²⁰ Rutledge JC, Woo MM, Rezai AA, Curtiss LK, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase increases lipoprotein binding to the artery wall and increases endothelial layer permeability by formation of lipolysis products. *Circ Res* 1997;80:819-28

³²¹ Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1997;79:350-4

³²² Lundman P, Eriksson M, Schenck-Gustafsson K, Karpe F, Tornvall P. Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors for coronary heart disease. *Circulation* 1997;96:3266-8

³²³ Kugiyama K, Doi H, Motoyama T, et al. Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* 1998;97:2519-26

³²⁴ Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest* 1992;89(1):10-8

³²⁵ Jougasaki M, Kugiyama K, Saito Y, Nakao K, Imura H, Yasue H. Suppression of endothelin-1 secretion by lysophosphatidylcholine in oxidized low density lipoprotein in cultured vascular endothelial cells. *Circ Res* 1992;71:614-9

remanentes ejercen un efecto directo sobre la función endotelial sin unirse a las glicoproteínas de la superficie celular, ya que el bloqueo de éstas no afecta al empeoramiento de la vasorrelajación inducido por los remanentes.

B) Inflamación

La estría grasa, que es la lesión arteriosclerótica más temprana, es una lesión inflamatoria, mediada por citoquinas (IL-1 β , interferón- γ , TNF α) y factores de crecimiento (factor de crecimiento derivados de plaquetas). La expresión en la superficie celular de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, P y E-selectina) y la liberación de factores quimiotácticos y activadores de linfocitos (CD40, LTB₄, I-TAC) y macrófagos (IL-8, M-CSF, MCP-1, osteopontina) favorecen la adhesión y diápedesis de estas células hacia el espacio subintimal³²⁷. La hipótesis oxidativa de la LDL y su papel en el inicio de la aterogénesis han sido ampliamente estudiados, conociéndose que la modificación de las LDL nativas a su forma oxidada tiene importantes efectos inflamatorios e inmunológicos, como el incremento en la expresión de moléculas de adhesión y quimiotaxis de monocitos y linfocitos T³²⁸. Las VLDL también han demostrado efectos proinflamatorios³²⁹, mientras que las HDL, al presentar actividad antioxidante, puede neutralizar los efectos proinflamatorios de los lipoperóxidos³³⁰. Por otra parte, en cultivos de células endoteliales y mononucleares con

³²⁷ Shishehbor MH, Bhatt DL. Inflammation and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6(2):131-9

³²⁸ Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(7):1162-7

³²⁹ Dichtl W, Nilsson L, Goncalves I, et al. Very low-density lipoprotein activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells. *Circ Res* 1999;84:1085-94

³³⁰ Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, et al. Paraoxonase and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1998;9(4):319-24

partículas remanentes se aumenta la expresión de CD11a, CD18, CD49d e IL-1 β , lo que indica un cierto papel en el inicio de la inflamación vascular³³¹.

3.2.2.2. Efectos sobre el estrés oxidativo

Existen evidencias, tanto en modelos celulares como en humanos, a favor de que las partículas remanentes inducen una sobreexpresión de moléculas de adhesión y FT, atenuada por la adición del antioxidante α -tocoferol, lo que sugiere la participación de un mecanismo oxidativo en la acción de estas lipoproteínas. Otros muchos de los fenómenos que acontecen en el desarrollo de la placa de ateroma, como la disminución de la vasorreactividad, el aumento de la permeabilidad endotelial a los leucocitos, la proliferación celular, modelado de la matriz extracelular y la apoptosis están regulados por mecanismos de oxidación-reducción³³².

3.2.2.3 Modificación de lipoproteínas

En el postprandio tiene lugar un marcado intercambio de lípidos entre las lipoproteínas circulantes, cuya intensidad está determinada por el tiempo de permanencia de las partículas en la circulación. Las LDL y HDL enriquecidas con TG resultantes sufren lipólisis por acción de la lipasa hepática, dando lugar a partículas pequeñas y densas. Aunque los remanentes de quilomicrones, de origen exógeno, probablemente tienen un papel en este proceso, el principal responsable es el incremento en la secreción de VLDL

³³¹ Kawakami A, Tanaka A, Nakajima K, Shimokado K, Yoshida M. Atorvastatin attenuates remnant lipoprotein-induced monocyte adhesion to vascular endothelium under flow conditions. *Circ Res* 2002;91:263-71

³³² Doi H, Kugiyama K, Oka H, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation* 2000;102:670-6

procedente de la síntesis endógena³³³. Este punto es importante, porque las dietas muy ricas en HC incrementan la tasa de síntesis de VLDL, mientras que las dietas con más grasa producen un mayor aumento postprandial de TG. Aún no se ha demostrado que la reducción de la lipemia postprandial *per se* conduzca a un incremento de HDL o a la reducción de LDL densas. Tampoco parece existir ningún efecto sobre el tamaño de las LDL de las dietas con alto contenido en AGM comparadas con dietas ricas en AGS^{334,335}. El incremento en el tamaño de las LDL observado tras el consumo elevado de n-3 en hipertriglicéridémicos puede atribuirse a la reducción de la síntesis de VLDL³³⁶.

Karpe y cols.³³⁷ demostraron que los niveles de TRL y la actividad de la LPL justifica el 50% de la variabilidad en el tamaño de las LDL. Éste no se afecta por la ingesta de una comida rica en grasa³³⁸, pero es bien conocido que los niveles altos de TG tanto basales como postprandiales se relacionan con la presencia de LDL pequeñas y densas³³⁹. La gran aterogenicidad de estas partículas se explica por diversos

³³³ Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1991;88(6):2059-66

³³⁴ Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, et al. Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2003;167(1):149-58

³³⁵ Minihane AM, Khan S, Leigh-Firbank EC, et al. ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(8):1990-7

³³⁶ Sanders TA, Sullivan DR, Reeve J, Thompson GR. Triglyceride-lowering effect of marine polyunsaturates in patients with hypertriglyceridemia. *Arteriosclerosis* 1985;5(5): 459-65

³³⁷ Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, Steiner G, Carlson LA, Hamsten A. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis* 1993;98(1):33-49

³³⁸ Cohn JS. Postprandial lipemia: emerging evidence for atherogenicity of remnant lipoproteins. *Can J Cardiol* 1998;14 Suppl B:18B-27B

³³⁹ Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82(2):495-506

mecanismos³⁴⁰ y estudios prospectivos confirman su poder predictivo de EC, estando presentes en un 50% de los pacientes con EC y niveles basales de LDL normales³⁴¹. En un grupo de hombres jóvenes que habían sufrido un IAM, los niveles de apoB48 se correlacionaron con los niveles plasmáticos de LDL pequeñas y densas³⁴². En personas diabéticas se han descrito unas LDL postprandiales con una susceptibilidad a la oxidación aumentada³⁴³.

En cuanto a las HDL, su composición y concentración de colesterol están inversamente relacionadas con la magnitud de la lipemia postprandial y de la concentración de TG. La lipólisis de TRL afecta a la tasa de formación de partículas de HDL³³⁸. Otro mecanismo para esta asociación podría ser el incremento de la transferencia de ésteres de colesterol de HDL a TRL, que se propone como uno de los cambios aterogénicos mediados por la lipemia postprandial prolongada³⁴⁴.

3.3. LIPEMIA POSTPRANDIAL Y HEMOSTASIA

La lipemia postprandial se asocia con cambios en parámetros de la hemostasia que se cree que elevan el riesgo de fenómenos trombóticos³⁴⁵. Como ya hemos comentado

³⁴⁰ Griffin BA. Lipoprotein atherogenicity: an overview of current mechanisms. *Proc Nutr Soc* 1999;58:163-9

³⁴¹ Krauss RM. Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:339-49

³⁴² Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, Steiner G, Carlson LA, Hamsten A. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis* 1993;98:33-49

³⁴³ Diwadkar VA, Anderson JW, Bridges SR, Gowri MS, Oelgten PR. Postprandial low-density lipoproteins in type 2 diabetes are oxidized more extensively than fasting diabetes and control samples. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999. 222(2):178-84

³⁴⁴ Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb* 1992;12(11):1336-45

³⁴⁵ Miller GJ. Postprandial lipaemia and haemostatic factors. *Atherosclerosis* 1998; 141 Suppl 1:S47-51

anteriormente, los datos epidemiológicos obtenidos por *The Northwick Park Heart Study* sugieren que el FVIIc podría predecir la aparición de EC³⁴⁶.

3.3.1. Factor VII postprandial

3.3.1.1. Ingesta aguda de grasa y FVII postprandial

Existen numerosas evidencias de que, tras una ingesta aguda de grasa, se produce un aumento de FVII que no se observa tras la ingesta aguda de alimentos pobres en grasa^{347,348,349,350,351,352,353,354,355,356,357,358,359,360,361,362}.

³⁴⁶ Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533-7

³⁴⁷ Tholstrup T, Marckmann P, Jespersen J, Sandstrom B. Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids. *Am J Clin Nutr* 1994;59(2):371-7

³⁴⁸ Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 2003;166(1):73-84

³⁴⁹ Kapur R, Hoffman CJ, Bhushan V, Hultin MB. Postprandial elevation of activated factor VII in young adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(11):1327-32

³⁵⁰ Silveira A, Karpe F, Johnsson H, Bauer KA, Hamsten A. In vivo demonstration in humans that large postprandial triglyceride-rich lipoproteins activate coagulation factor VII through the intrinsic coagulation pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(11):1333-9

³⁵¹ Bladbjerg EM, Munster AM, Marckmann P, Keller N, Jespersen J. Dietary factor VII activation does not increase plasma concentrations of prothrombin fragment 1+2 in patients with stable angina pectoris and coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(11):2494-9

³⁵² Sanders TA, Oakley FR, Cooper JA, Miller GJ. Influence of a stearic acid-rich structured triacylglycerol on postprandial lipemia, factor VII concentrations, and fibrinolytic activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001;73(4):715-21

³⁵³ Zampelas A, Roche H, Knapper JM, et al. Differences in postprandial lipaemic response between Northern and Southern Europeans. *Atherosclerosis* 1998;139(1):83-93

³⁵⁴ Gill JM, Frayn KN, Wootton SA, Miller GJ, Hardman AE. Effects of prior moderate exercise on exogenous and endogenous lipid metabolism and plasma factor VII activity. *Clin Sci (Lond)* 2001;100(5):517-27

³⁵⁵ Miller GJ, Martin JC, Mitropoulos KA, et al. Activation of factor VII during alimentary lipemia occurs in healthy adults and patients with congenital factor XII or factor XI deficiency, but not in patients with factor IX deficiency. *Blood* 1996;87(10):4187-96

³⁵⁶ Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, Humpries SE. Dietary oleic and palmitic acids and postprandial factor VII in middle-aged men heterozygous and

Este incremento es debido a la activación de FVII, ya que una sola ingesta aguda no afecta a su concentración. La respuesta es detectable a las 2-3 horas tras la ingesta, persiste al menos 8 horas y es un fenómeno dosis-dependiente^{361,362}. El mecanismo no está aún aclarado, pero parece que participa el FIX, que también se activa tras una ingesta aguda de grasa. Sin embargo, el FXII no es esencial^{352,355}.

El efecto de la composición grasa de una ingesta aguda sobre la respuesta postprandial del FVIIa ha sido ampliamente estudiado. El resultado global de estos trabajos es difícil de resumir por sus distintas metodologías: las sobrecargas grasa utilizadas han sido muy diferentes en cuanto a composición (AG de distintas longitud de cadena, grado de insaturación y concentración) y forma (alimentos completos, preparados de AG), además de diferencias entre las poblaciones participantes y las determinaciones de FVII en distintos laboratorios. Teniendo en cuenta esto, al analizar los principales estudios sobre dietas occidentales ricas en AGS, se observa que el ácido oleico parece ser el principal determinante en los

homozygous for factor VII R353Q polymorphism. *Am J Clin Nutr* 1999;69(2):220-5

³⁵⁷ Salomaa V, Rasi V, Pekkanen J, et al. The effects of saturated fat and n-6 polyunsaturated fat on postprandial lipemia and hemostatic activity. *Atherosclerosis* 1993;103(1):1-11

³⁵⁸ Larsen LF, Bladbjerg EM, Jespersen J, Marckmann P. Effects of dietary fat quality and quantity on postprandial activation of blood coagulation factor VII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2904-9

³⁵⁹ Mennen L, de Maat M, Meijer G, et al. Factor VIIa response to a fat-rich meal does not depend on fatty acid composition: a randomized controlled trial. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998;18(4): 599-603

³⁶⁰ Oakley FR, Sanders TA, Miller GJ. Postprandial effects of an oleic acid-rich oil compared with butter on clotting factor VII and fibrinolysis in healthy men. *Am J Clin Nutr* 1998;68(6):1202-7

³⁶¹ Sanders TA, Miller GJ, de Grassi T, Yahia N. Postprandial activation of coagulant factor VII by long-chain dietary fatty acids. *Thromb Haemost* 1996;76:369-71

³⁶² de Grassi T, Miller GJ, Sanders TA. Increased factor VII coagulant activity following the consumption of a high fat meal in healthy subjects. *Proc Nutr Soc* 1996;53:79

cambios postprandiales del FVII (Tabla 12). De forma contradictoria, en el trabajo de Mitropoulos y cols.³⁶³, en el análisis de regresión múltiple, el ácido esteárico resultó un mejor predictor de FVIIc que el ácido oleico. En subsiguientes estudios, sin embargo, el ácido oleico se asoció con la mayor activación postprandial de FVII, objetivándose una menor activación en los que presentaban menos contenido en oleico^{352,356,360,361,364,365,366,367,368}. En un estudio dirigido por Tholstrup³⁶⁴, los niveles postprandiales de FVIIa tras una comida rica en AGS fueron significativamente menores que tras las comidas con alto contenido en AGM y AGP. En otro trabajo, sin embargo, la ingesta de sobrecargas grasas con diferente contenido en ácido oleico no influyó en el grado de activación de FVII postprandial.

³⁶³ Mitropoulos KA, Miller GJ, Martin JC, Reeves BE, Cooper J. Dietary fat induces changes in factor VII coagulant activity through effects on plasma free stearic acid concentration. *Arterioscler Thromb* 1994;14:214-22

³⁶⁴ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77(5):1125-32

³⁶⁵ Hunter KA, Crosbie LC, Weir A, Miller GJ, Dutta-Roy AK. The effects of structurally defined triglycerides of differing fatty acid composition on postprandial haemostasis in young, healthy men. *Atherosclerosis* 1999;142:151-8

³⁶⁶ Hunter KA, Crosbie LC, Horgan GW, Miller GJ, Dutta-Roy AK. Effect of diets rich in oleic acid, stearic acid and linoleic acid on postprandial haemostatic factors in young healthy men. *British Journal of Nutrition* 2001;86:207-15

³⁶⁷ Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, Morrissey JH. Influence of fatty acid chain length and cis/trans isomerization on postprandial lipemia and factor VII in healthy subjects (postprandial lipids and factor VII). *Atherosclerosis* 2000;149:413-20

³⁶⁸ Sanders TA, Oakley FR, Miller GJ, Mitropoulos KA, Crook D, Oliver MF. Influence of n-6 versus n-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on plasma lipoproteins and hemostatic factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3449-60

<i>Autor</i>	<i>Población</i>	<i>Diseño</i>	<i>Ác. Oleico</i>	<i>FVII</i>
Mitropoulos ³⁶³	4♂ 1♀	RC dietas	1=AGS: 47 g/día 2=AGI: 21 g/día 3=Bajo en grasa: 9,5g/día	1 >2>3 ^a
Sanders ³⁵²	17♂ 18♀ 40-60 años	RC IA	1=Girasol: 38 g 2=Coco: 22 g 3=AGS: 11 g	1 >2>3 ^a
Sanders ³⁵⁶	4♂ 2♀ 22-43 años	RC IA	1=15g grasa: 7 g 2=60g grasa:27 g 3=90g grasa:41 g 4=120g grasa:54 g	3>4>2> >1 ^a
Sanders ³⁶¹	52♂ 59 años media	R IA	1=Oleico: 40 g 2=Palmitico: 20 g 3=Bajo en grasa:12g	1 >2>3 ^a
Oakley ³⁶⁰	12 ♂ jóvenes	RC IA	1=Oleico: 65 g 2=Oleico+TCM:51 g 3=Mantequilla: 18 g 4=Bajo en grasa: 0g	1 >2>3>4 _b
Tholstrup ³⁶⁴	16 ♂ jóvenes	RC IA	1=AGS: 43-46 ^c 2=AGM: 82-88 ^c 3=AGP: 45 ^c	2>1 >3>1
Hunter ³⁶⁵	8 ♂ jóvenes	RC IA	1=AGM: 88 ^d 2=AGS: 46 ^d 3=AGP: 39 ^d 4=Control: 39 ^d	4>1>2> >3 ^e
Hunter ³⁶⁶	8 ♂ jóvenes	RC dietas+ IA	1=Esteárico: 37 ^d 2=Oleico: 66 ^d 3=Linoleico: 38 ^d	3>2>1 ^a
Sanders ³⁶⁷	11♂ 5♀ jóvenes	IA	1=Oleico: 69 g 2=trans/esteárico/palmitico/TCM: 31-34 g 3=Bajo en grasa: 8g	1>2>3 ^a
Sanders ³⁶⁸	26♂	RC dietas+IA	1=AGS: 32 ^c 2=AGM: 54 ^c 3=AGP: 50 ^c	2>3>1 ^f

Tabla 12: Estudios de actividad de FVII postprandial. Ác= Ácido; ♂= Hombres; ♀= Mujeres; RC= Randomizado cruzado; IA= Ingesta aguda; AGS= Ácidos grasos saturados; AGI=Ácidos grasos insaturados; g= gramos; TCM: Triglicéridos de cadena media; AGM= Ácidos grasos monoinsaturados; AGP= Ácidos grasos poliinsaturados; ^a Incremento medio de FVIIa (µg/L), a las 3 horas de la ingesta; ^b Incremento medio de FVIIc (%) a las 3 horas de la ingesta; ^c Porcentaje de peso total de AG; ^d Porcentaje del total de AG; ^e Incremento medio de FVIIa (% respecto a basal), a las 3 horas de la ingesta; ^f Incremento medio de FVIIc (%) a las 4 horas de la ingesta

Una teoría interesante que ha adquirido importancia recientemente sugiere que la activación postprandial del FVII, tras la ingesta aguda de grasa, podría estar influenciada por la dieta habitual consumida antes de la fase aguda, de manera que el consumo crónico de aceite de oliva podría prevenir la

activación aguda del FVII³⁶⁹. En un estudio comparativo entre hombres del norte y sur de Europa, se compararon dos sobrecargas grasas (AGS vs AGM), con niveles postprandiales de FVIIc significativamente mayores en los del norte que en los del sur de Europa³⁷⁰. Dos estudios compararon el efecto de sendas dietas ricas en AGS y AGM sobre la respuesta del FVII a una ingesta aguda rica en AGS³⁷¹ y AGM³⁷², respectivamente. Los niveles de FVII basales no difirieron entre ambas dietas, pero los niveles de FVIIa³⁷² y FVIIc³⁷¹ fueron significativamente mayores tras la dieta con alto contenido en AGS. Larsen y cols.³⁷³ utilizaron dietas ricas en aceite de oliva (ácido oleico), girasol (ácido linoleico) o colza (rica en oleico, pero con más linoleico), seguidas de sobrecargas con aceite de colza. No existieron diferencias significativas entre las determinaciones basales de FVIIc, FVIIa o FVIIag, pero los niveles postprandiales de FVIIa fueron superiores tras la dieta con aceite de girasol, intermedios tras la de colza e inferiores tras la de oliva. Smith y cols. describen una respuesta postprandial menor de FVIIc tras una dieta rica en AGM que en una rica en AGS³⁷⁴.

³⁶⁹ Perez-Jimenez F, Lista JD, Perez-Martinez P, et al. Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects. *Public Health Nutr* 2006;9:1083-8

³⁷⁰ Zampelas A, Roche H, Knapper JM, et al. Differences in postprandial lipaemic response between Northern and Southern Europeans. *Atherosclerosis* 1998;139:83-93

³⁷¹ Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 2003;166(1):73-84

³⁷² Roche HM, Zampelas A, Knapper JM, et al. Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism. *Am J Clin Nutr* 1998;68(3):552-60

³⁷³ Larsen LF, Jespersen J, Marckmann P. Are olive oil diets antithrombotic? Diets enriched with olive, rapeseed, or sunflower oil affect postprandial factor VII differently. *Am J Clin Nutr* 1999;70:976-82

³⁷⁴ Smith RD, Kelly CN, Fielding BA, et al. Long-term monounsaturated fatty acid diets reduce platelet aggregation in healthy young subjects. *Br J Nutr* 2003;90:597-606

En resumen, aunque la literatura no es demasiado consistente al respecto, el contenido en AGS de una dieta parece ser el principal determinante de los niveles de FVII, sin una respuesta transitoria significativa a una única ingesta aguda. Sin embargo, en personas que consumen de forma habitual una dieta occidental rica en AGS, la activación postprandial de FVII está determinada principalmente por el contenido en ácido oleico de la comida. Por otra parte, también existen evidencias de que en una dieta rica en AGM, la activación postprandial de FVII es mayor tras el consumo de una comida rica en AGS que tras el de una comida rica en AGM. El efecto de una comida rica en AGP es más incierto, pero parece ser intermedio entre AGS y AGM.

3.3.1.2. Triglicéridos plasmáticos y FVII postprandial

Numerosos estudios señalan que el efecto de la grasa de la dieta sobre los niveles basales y la activación postprandial de FVII no están mediados por los niveles de TG^{372,373,375,376,377,378,379}. Tanto la incubación de plasma con VLDL^{380,381}, como altas concentraciones de TG en portadores

³⁷⁵ Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, Humpries SE. Dietary oleic and palmitic acids and postprandial factor VII in middle-aged men heterozygous and homozygous for factor VII R353Q polymorphism. *Am J Clin Nutr* 1999;69(2): 220-5

³⁷⁶ Larsen LF, Bladbjerg EM, Jespersen J, Marckmann P. Effects of dietary fat quality and quantity on postprandial activation of blood coagulation factor VII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):2904-9

³⁷⁷ Mennen L, de Maat M, Meijer G, et al. Factor VIIa response to a fat-rich meal does not depend on fatty acid composition: a randomized controlled trial. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998;18(4): 599-603

³⁷⁸ Miller GJ, Martin JC, Webster J, et al. Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity--a predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis* 1986;60:269-77

³⁷⁹ Yahia N, Sanders TA. Influence of n-3 fatty acids on postprandial lipaemia and factor VII coagulant activity. *Proc Nutr Soc* 1996;56:173A

³⁸⁰ Constantino M, Merskey C, Kudzma DJ, Zucker MB. Increased activity of vitamin K-dependent clotting factors in human hyperlipoproteinaemia - association with cholesterol and triglyceride levels. *Thromb Haemost* 1977;38:465-74

de una deficiencia familiar de LPL³⁸² no se asocian con la activación de FVII. Lindmann y cols.³⁸³ no encontraron asociación entre la activación postprandial de FVII y los niveles séricos de fosfolípidos con colina. Sin embargo, Tholstrup y cols.³⁸⁴ observaron un menor incremento en FVIIa asociado a un aumento más lento y menos pronunciado de TG tras comidas ricas en AGS que tras comidas con alto contenido en AGM. Sanders y cols. encontraron una asociación positiva, aunque débil, entre el incremento de FVIIC a las 7 horas tras una comida y el área bajo la curva de TG postprandiales que, sin embargo, desapareció al añadir 6 puntos de datos más por voluntario³⁸⁵. Globalmente, las disparidades descritas entre las concentraciones de FVIIa y TG en múltiples trabajos apuntan hacia que el grado de lipemia postprandial *per se* no es probablemente un factor que influya en el grado de activación del FVII. La grasa alimenticia debe, por tanto, activar al FVII por mecanismos independientes de la lipemia postprandial, como el transporte reverso de colesterol y la activación de los PPARs.

³⁸¹ Miller GJ, Walter SJ, Stirling Y, Thompson SG, Esnouf MP, Meade TW. Assay of factor VII activity by two techniques: evidence for increased conversion of VII to alpha VIIa in hyperlipidaemia, with possible implications for ischaemic heart disease. *Br J Haematol* 1985;59:249-58

³⁸² Mitropoulos KA, Miller GJ, Watts GF, Durrington PN. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins activates coagulant factor XII: a study in familial lipoprotein-lipase deficiency. *Atherosclerosis* 1992;95:119-25

³⁸³ Lindman AS, Muller H, Seljeflot I, Prydz H, Veierod M, Pedersen JI. Effects of dietary fat quantity and composition on fasting and postprandial levels of coagulation factor VII and serum choline-containing phospholipids. *Br J Nutr* 2003;90:329-36

³⁸⁴ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77(5):1125-32

³⁸⁵ Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, Morrissey JH. Influence of fatty acid chain length and cis/trans isomerization on postprandial lipemia and factor VII in healthy subjects (postprandial lipids and factor VII). *Atherosclerosis* 2000;149:413-20

3.3.1.3. Transporte reverso de colesterol y FVII postprandial

La función principal de las HDL es la de transporte reverso de colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado, para su posterior eliminación por la bilis. Las apolipoproteínas de la HDL, apo-A1 y apo-A2, se sintetizan en el hígado. Una vez en el plasma, se acoplan diferentes porciones lipídicas mediante el ABCA1 (Transportador de unión a ATP A1), proteína con la capacidad de transferir colesterol y fosfolípidos desde las células hasta las partículas de HDL³⁸⁶.

El transporte de fosfatidilserina por la ABCA1 confiere a la superficie celular propiedades procoagulantes³⁸⁷, al activar la unión de factores de coagulación vitamina K dependientes a las membranas plasmáticas³⁸⁸. Miller y cols.³⁸⁹ demostraron que la infusión intravenosa de discos de apo-A1 y fosfatidilcolina en jóvenes voluntarios estimulaba el transporte reverso de colesterol y producía una marcada activación del FVII durante unas 12 horas. No obstante, aunque esto podría explicar el efecto de la ingesta de grasa sobre la activación postprandial de FVII, no justificaría las diferencias en dicha activación según el tipo de AG consumido. Este fenómeno parece estar influenciado por la actividad y expresión de ABC-A1 a través de los PPARs, implicados en la regulación de

³⁸⁶ Oram JF. HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:720-7

³⁸⁷ Hamon Y, Broccardo C, Chambenoit O, et al. ABC1 promotes engulfment of apoptotic cells and transbilayer redistribution of phosphatidylserine. *Nat Cell Biol* 2000;2:399-406

³⁸⁸ Neuenschwander PF, Fiore MM, Morrissey JH. Factor VII autoactivation proceeds via interaction of distinct protease-cofactor and zymogen-cofactor complexes. Implications of a two-dimensional enzyme kinetic mechanism. *J Biol Chem* 1993;268:21489-92

³⁸⁹ Miller GJ, Cooke CJ, Nanjee MN, et al. Factor VII activation, apolipoprotein A-I and reverse cholesterol transport: possible relevance for postprandial lipaemia. *Thromb Haemost* 2002;87:477-82

genes relacionados con el almacenamiento y catabolismo de lípidos³⁹⁰. Las tres isoformas de PPARs (α , β y γ) se unen a varios AG³⁹¹, así los PPAR- α interactúan con AG insaturados (oleico, linoleico y linolénico), pero no con AGS³⁹². La expresión del gen de ABC-A1 podría estar inducida por PPAR- α y γ , que han demostrado provocar depleción de colesterol en macrófagos³⁹³. Estos ligandos activadores derivan directamente de la dieta, lo que indicaría que los PPAR γ , por tanto, los ABC-A1, se ven influenciados por el contenido en AG de la dieta.

Por otra parte, el transportador ABC-A1 también podría implicarse en el hecho de que la activación postprandial de FVII no se siga de la generación de trombina³⁹⁴. ABC-A1 no está presente en la superficie luminal de las células endoteliales. Por tanto, la activación de FVII que sigue a la translocación de fosfolípidos es probablemente un fenómeno extravascular, con transporte del FVII al compartimento vascular a través de la linfa. Miller y cols.³⁹⁵ comprobaron la existencia de activación extravascular de FVII, FIX y FX, así como la inhibición de este último por TFPI, lo que, además de

³⁹⁰ Wahli W, Braissant O, Desvergne B. Peroxisome proliferator activated receptors: transcriptional regulators of adipogenesis, lipid metabolism and more. *Chem Biol* 1995;2:261-6

³⁹¹ Krey G, Braissant O, L'Horsset F, et al. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Mol Endocrinol* 1997;11:779-91

³⁹² Lin Q, Ruuska SE, Shaw NS, Dong D, Noy N. Ligand selectivity of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Biochemistry* 1999;38:185-90

³⁹³ Argmann CA, Sawyez CG, McNeil CJ, Hegele RA, Huff MW. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoid X receptor results in net depletion of cellular cholesteryl esters in macrophages exposed to oxidized lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:475-82

³⁹⁴ Bladbjerg EM, Munster AM, Marckmann P, et al. Dietary factor VII activation does not increase plasma concentrations of prothrombin fragment 1+2 in patients with stable angina pectoris and coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(11): 2494-9

la ausencia de plaquetas en el espacio extravascular y la baja concentración de fibrinógeno en este entorno, hacen imposible la activación de la generación de trombina.

3.3.2. Lipemia postprandial y fibrinólisis

A pesar de que existen evidencias de que el tipo de dieta consumida de forma crónica influye en los niveles plasmáticos de PAI-1, no se ha podido establecer de qué manera la cantidad o el tipo de grasa puede afectar a la concentración postprandial de PAI-1, tPA o dímero D (Tabla 13).

En cuanto al PAI-1, se han descrito tanto incrementos^{396,397} como reducciones^{398,399,400} de su concentración tras comidas con un alto contenido en grasas. Incluso se ha sugerido que estos datos podrían ser simplemente el resultado de variaciones circadianas de las concentraciones de PAI-1, sin ninguna relación con la dieta^{401,402}. Tampoco se conoce una explicación clara sobre el

³⁹⁵ Miller GJ, Howarth DJ, Attfield JC, et al. Haemostatic factors in human peripheral afferent lymph. *Thromb Haemost* 2000;83:427-32

³⁹⁶ Byrne CD, Wareham NJ, Martensz ND, Humphries SE, Metcalfe JC, Grainger DJ. Increased PAI activity and PAI-1 antigen occurring with an oral fat load: associations with PAI-1 genotype and plasma active TGF-beta levels. *Atherosclerosis* 1998;140:45-53

³⁹⁷ Kozima Y, Urano Y, Serizawa K, Takada Y, Takada A. Impaired fibrinolytic activity induced by ingestion of butter: effect of increased plasma lipids on the fibrinolytic activity. *Thromb Res* 1993;70:191-202

³⁹⁸ Oakley FR, Sanders TA, Miller GJ. Postprandial effects of an oleic acid-rich oil compared with butter on clotting factor VII and fibrinolysis in healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition* 1998;68:1202-7

³⁹⁹ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1125-32

⁴⁰⁰ Salomaa V, Rasi V, Pekkanen J, et al. The effects of saturated fat and n-6 polyunsaturated fat on postprandial lipemia and hemostatic activity. *Atherosclerosis* 1993;103:1-11

⁴⁰¹ Angleton P, Chandler WL, Schmer G. Diurnal variation of tissue-type plasminogen activator and its rapid inhibitor (PAI-1). *Circulation* 1989;79:101-6

mecanismo por el cual las concentraciones de PAI-1 podrían estar influenciadas por la ingesta aguda de diferentes cantidades de grasa, aunque se ha sugerido que las VLDL podrían regular la transcripción de PAI-1^{403,404,405}, lo que podría ser evitado por antioxidantes^{406,407,408}. Las concentraciones plasmáticas en ayunas de TG se correlacionan de forma negativa con las de PAI-1, pero esto no se ha objetivado en el estado postprandial.

Al igual que en la situación basal, en el postprandio también se ha propuesto que el efecto del aceite de oliva sobre la actividad del PAI-1 pueda estar mediado por sus micronutrientes⁴⁰⁹. Así, en un trabajo de nuestro grupo, Ruano y cols.⁴¹⁰ observaron una reducción significativa de la concentración de PAI-1 120 minutos después del consumo de aceite de oliva con un alto contenido fenólico, comparada con las medida tras un desayuno con aceite con bajo contenido en

⁴⁰² Marckmann P, Sandstrom B, Jespersen J. Dietary effects on circadian fluctuation in human blood coagulation factor VII and fibrinolysis. *Atherosclerosis* 1993;10:225-34

⁴⁰³ Nilsson L, Gafvels M, Musakka L, et al. VLDL activation of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression: involvement of the VLDL receptor. *J Lipid Res* 1999;40:913-9

⁴⁰⁴ Dichtl W, Ares MP, Stollenwerk M, et al. In vivo stimulation of vascular plasminogen activator inhibitor-1 production by very low-density lipoprotein involves transcription factor binding to a VLDL-responsive element. *Thromb Haemost* 2000;84:706-11

⁴⁰⁵ Sironi L, Mussoni L, Prati L, et al. Plasminogen activator inhibitor type-1 synthesis and mRNA expression in HepG2 cells are regulated by VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:89-96

⁴⁰⁶ Carroll MF, Schade DS. Timing of antioxidant vitamin ingestion alters postprandial proatherogenic serum markers. *Circulation* 2003;108:24-31

⁴⁰⁷ Ren S, Shen GX. Impact of antioxidants and HDL on glycated LDL-induced generation of fibrinolytic regulators from vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1688-93

⁴⁰⁸ Devaraj S, Chan AV, Jr., Jialal I. alpha-Tocopherol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor-1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2002;25:524-9

⁴⁰⁹ Pacheco YM, Lopez S, Bermudez B, Abia R, Muriana FJ. Extra-virgin vs. refined olive oil on postprandial hemostatic markers in healthy subjects. *J Thromb Haemost* 2006;4:1421-2

⁴¹⁰ Ruano J, Lopez-Miranda J, de la Torre R, et al. Intake of phenol-rich virgin olive oil improves the postprandial prothrombotic profile in hypercholesterolemic patients. *Am J Clin Nutr* 2007;86:341-6

polifenoles. En este trabajo, además, los niveles de PAI-1 se correlacionaron con la resistencia a la insulina. De modo interesante, la unión del activador de la proteína 1 a un elemento regulador de la región promotora del gen del PAI-1 induce que la velocidad de transcripción de PAI-1 se multiplique por 7 cuando es estimulado por la insulina⁴¹¹. Además, este mismo elemento induce que dicha velocidad se triplique en presencia de estrés oxidativo⁴¹², como ocurre en el período postprandial. Este elemento regulador del promotor del PAI-1 podría ser la diana sobre la que actúen los micronutrientes del aceite de oliva.

⁴¹¹ Vulin AI, Stanley FM. Oxidative stress activates the plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) promoter through an AP-1 response element and cooperates with insulin for additive effects on PAI-1 transcription. *J Biol Chem* 2004;279:25172-8

⁴¹² Larsen LF, Bladbjerg EM, Jespersen J, Marckmann P. Effects of dietary fat quality and quantity on postprandial activation of blood coagulation factor VII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2904-9

Autor	Población	Alimento	Diseño	Resultados
Hunter ⁴¹³	6 ♂ jóvenes	Esteárico vs Oleico vs Linoleico	IRnC D/T	↑PAI-1 3h en 3 lipemias
Salomaa ⁴¹⁴	10 ♂ mediana edad	Saturada (crema) vs n-6(Ac.Girasol) vs HC	IRnC Tests	↓PAI-1 en 3 lipemias
Sanders ⁴¹⁵	32 ♂ mediana edad	Rico Grasa(O,P) vs Bajo grasa		↓T lisis coag ↓PAI-1 en 3 lipemias
Tholstrup ⁴¹⁶	16 ♂ jóvenes	Puré patata+jugo Saturada (S, P,M) Insaturada (O,T,L)		Saturada: ↑ tPA y ↓PAI-1
Kozima ⁴¹⁷	sanos	Mantequilla distintas cantidades		Tras 8 h 100gr: ↑PAI-1,tPA ND
Pacheco ⁴⁰⁹	14 ♂ sanos	Dieta NCEP1 Ac.Oliva virgen extra vs refinado	IRC D/T	Virgen: ↓PAI-1, ↓ tPA
Oakley ⁴¹⁸	12 ♂ jóvenes	Rico Grasa (O, mantequilla, TCM) Bajo grasa	IRC Tests	PAI-1 ND Dímero D ND
Sanders ⁴¹⁹	17 ♂,18 ♀	Mantequilla coco, Oleato(Ac Girasol) Esteárico (TG)		↓PAI-1 3,6 h en 3 lipemias Dímero D ND

Tabla 13: Estudios sobre lipemia postprandial y fibrinólisis. ♂= Varones; ♀= Mujeres; Ac.= Aceite; IR= Intervención randomizada; (n)C= (no)cruzada; D/T=Dieta/Test; HC= Hidratos de carbono; F1+2= Fragmentos de protrombina 1 y 2; S= esteárico; P=Palmitico; M=Mirístico; O=Oleico; T=Trans, L=Linoleico; TCM= Triglicéridos de cadena media; NCEP1= Dieta del National Cholesterol Pannel paso 1 (rica en hidratos de carbono)

⁴¹³ Hunter KA, Crosbie LC, Horgan GW, Miller GJ, Dutta-Roy AK. Effect of diets rich in oleic acid, stearic acid and linoleic acid on postprandial haemostatic factors in young healthy men. *British Journal of Nutrition* 2001;86:207-15

⁴¹⁴ Salomaa V, Rasi V, Pekkanen J, et al. The effects of saturated fat and n-6 polyunsaturated fat on postprandial lipemia and hemostatic activity. *Atherosclerosis* 1993;103:1-11

⁴¹⁵ Sanders TA, de Grassi T, Acharya J, Miller GJ, Humphries SE. Postprandial variations in fibrinolytic activity in middle-aged men are modulated by plasminogen activator inhibitor I 4G-675/5G genotype but not by the fat content of a meal. *Am J Clin Nutr* 2004;79:577-81

⁴¹⁶ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1125-32

⁴¹⁷ Kozima Y, Urano Y, Serizawa K, Takada Y, Takada A. Impaired fibrinolytic activity induced by ingestion of butter:effect of increased plasma lipids on the fibrinolytic activity. *Thromb Res* 1993;70:191-202

⁴¹⁸ Oakley FR, Sanders TA, Miller GJ. Postprandial effects of an oleic acid-rich oil compared with butter on clotting factor VII and fibrinolysis in healthy men. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1202-7

⁴¹⁹ Sanders TA, Oakley FR, Cooper JA, Miller GJ. Influence of a stearic acid-rich structured triacylglycerol on postprandial lipemia, factor VII concentrations, and fibrinolytic activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001;73:715-21

3.3.3. Lipemia postprandial y función plaquetaria

Además del efecto sobre los factores trombogénicos, las lipoproteínas postprandiales circulantes podrían también afectar a la reactividad plaquetaria⁴²⁰. A pesar de que se han estudiado distintos marcadores de actividad plaquetaria para establecer este punto, los resultados son contradictorios^{421,422}. Utilizando la técnica de citometría de flujo, se ha asociado la lipemia postprandial con un discreto aumento en la reactividad plaquetaria, con incremento de la expresión de marcadores de la superficie celular en hombres jóvenes⁴²³. Además, la agregación entre plaquetas y monocitos y la expresión de citoquinas intracelulares de monocitos se elevaron durante el período postprandial y permanecieron altos hasta que los niveles de TG volvieron a la situación basal.

⁴²⁰ Nordoy A, Strom E, Gjesdal K. The effect of alimentary hyperlipaemia and primary hypertriglyceridaemia on platelets in man. *Scand J Haematol* 1974;12:329-40

⁴²¹ Jakubowski JA, Ardlie NG, Chesterman CN, McGready JF, Morgan FJ. Acute postprandial lipaemia does not influence the in vivo activity of human platelets. *Thromb Res* 1985;39:725-32

⁴²² Fuhrman B, Brook JG, Aviram M. Increased platelet aggregation during alimentary hyperlipemia in normal and hypertriglyceridemic subjects. *Ann Nutr Metab* 1986;30:250-60

⁴²³ Broijersen A, Karpe F, Hamsten A, Goodall AH, Hjerdahl P. Alimentary lipemia enhances the membrane expression of platelet P-selectin without

affecting other markers of platelet activation. *Atherosclerosis* 1998;137:107-13

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hemostasia es el resultado de un complejo equilibrio entre coagulación y fibrinólisis.

Tras una comida rica en grasa, se observan importantes cambios en el sistema hemostático, con la aparición de un ambiente protrombótico, que parece más acentuado tras la ingesta de AGS. Sin embargo, aún no se han logrado establecer, por una parte, los efectos tanto agudos como crónicos que los distintos patrones dietéticos tienen sobre la hemostasia, ni, por otra, el efecto subyacente de la dieta sobre la activación postprandial de la hemostasia.

Nuestra hipótesis es que la ingesta de una comida con alto contenido en AGM tras una dieta rica en esta grasa provoca un estado protrombótico menor que la ingesta de comidas ricas ácidos grasos n3 o AGS tras unas dietas ricas en cada una de estas grasas, respectivamente.

OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar el efecto de tres desayunos conteniendo grasas diferentes (aceite de oliva, mantequilla y nueces), en personas jóvenes que previamente han seguido distintos modelos de dieta basal, sobre los niveles de FVII coagulante

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1.- Estudiar el efecto de cada modelo de alimentación sobre las modificaciones postprandiales en los niveles plasmáticos de PAI-1 ante la ingesta de una comida grasa.

2.- Determinar el efecto de estos modelos de alimentación sobre las modificaciones postprandiales de los niveles plasmáticos de FVIIc, tPA, tromboxano B2, Dímero D, peróxidos lipídicos y nitratos/nitritos ante la ingesta de una comida grasa.

DISEÑO Y METODOLOGÍA

1.-Población

La población consistió en 20 voluntarios sanos de sexo masculino y de edades comprendidas entre 18 y 30 años. A esta población se le realizó un análisis del genotipo de la apolipoproteína E con objeto de seleccionar aquellos que presentaron el genotipo más común en la población general (E3E3) y eliminar la influencia que dicha variación genética induce sobre la respuesta lipémica postprandial, los niveles plasmáticos de colesterol y el grado de de respuesta lipídica a dietas con alto contenido graso. Dicho grupo participó en tres períodos de intervención dietética de 4 semanas de duración y al finalizar cada período se les realizó un estudio de lipemia postprandial.

1.1.- Criterios de inclusión:

Edad entre 18 y 30 años

Varones sanos portadores del genotipo de apoE3/E3

Cifras de colesterol plasmático inferiores a 200 mg.dL⁻¹

Cifras de triglicéridos menores de 200 mg.dL dL⁻¹

1.2.- Criterios de exclusión

Mostrar evidencia de enfermedad crónica

Actividad física significativamente superior a la normalidad

Ingesta de alcohol superior a 20 gramos/día

Ingesta de fármacos que afecten al metabolismo lipídico, anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios

1.3.- Cálculo del tamaño muestral. El cálculo del tamaño muestral se realizó en base a las siguientes asunciones tomadas de nuestros estudios previos:

- Variable principal del estudio: Incremento postprandial máximo de FVIIC
- Desviación estándar de la variable principal del estudio: 9.4
- Diferencia mínima esperada: ($H_0=32$; $H_1=24$; $r=0.65$)
- Riesgo alfa= 0.05
- Potencia ($1-\beta$)= 0.90

En base a estas premisas, se precisan al menos un total de 15 pacientes estudiados.

2.- Diseño del estudio

Todos los voluntarios consumieron tres períodos de intervención dietética de cuatro semanas de duración e isocalóricos en relación a su consumo previo habitual con objeto de mantener su peso estable. La administración de las dietas se hizo de forma randomizada y cruzada siguiendo un diseño de cuadrados latinos (Figura 6), para lo que se dividió a los voluntarios en tres grupos de forma aleatorizada y se les administró durante cuatro semanas las tres dietas según el siguiente esquema:

	<u>GRUPO A</u>	<u>GRUPO B</u>	<u>GRUPO C</u>
ENTRADA (tiempo 0)			
TIEMPO 1 (semana 4)	SAT	OLIVA	N-3
TIEMPO 2 (semana 8)	OLIVA	N-3	SAT
TIEMPO 3 (semana 12)	N-3	SAT	OLIVA

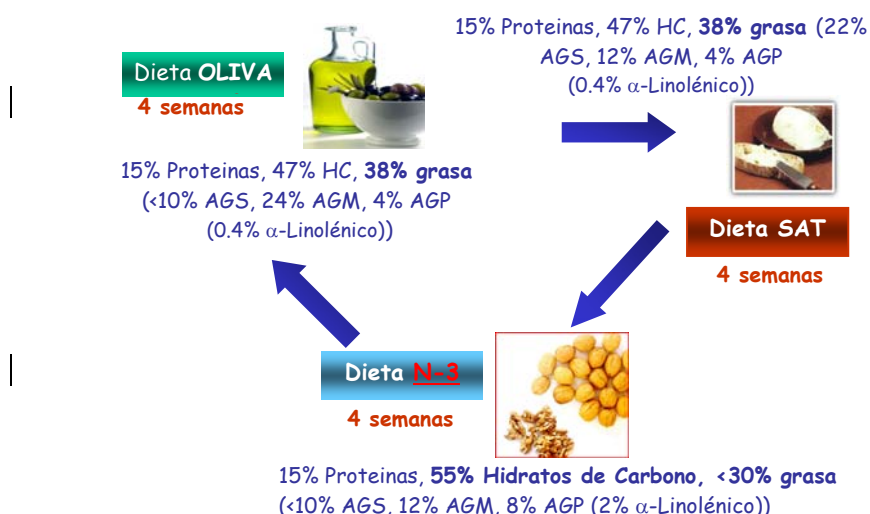


Figura 6: Administración randomizada de las dietas

La dieta rica en AGS (dieta **SAT**) estuvo compuesta por un 15% (en relación al contenido calórico total) de proteína, 47% de HC y 38% de grasa total (22% de AGS, 4% de AGP y 12% de AGM). La dieta rica en AGM (dieta **OLIVA**) consistió en un 15% de proteínas, 47% de HC y 38% de grasa total, distribuida de la siguiente forma: <10% de AGS, 4% de AGP y 24% de AGM (fundamentalmente ácido oleico a expensas de aceite de oliva virgen). La dieta **N-3**, rica en HC y en AGP n-3 de origen vegetal (ácido alfa-linolénico), estuvo compuesto por <30% de grasa (<10% de AGS, 8% AGP, 12% AGM), 55% HC y 15% proteínas.

Durante el período de dieta rica en AGM, el aceite de oliva proporcionó el 80% del contenido de AGM. Fue usado para cocinar, como aderezo de ensaladas y tostadas en una dosis media diaria de 70 mL.

El aporte de HC durante la dieta N-3 se basó en el consumo de galletas (25g/día), mermelada (12g/día) y pan. El AGP n-3 ácido α -linolénico fue aportado por nueces (35 g/día).

Por su parte, la mantequilla se usó como la principal fuente de AGS durante la dieta SAT, con un consumo diario medio de 48 gramos.

El contenido de colesterol de las dietas fue de menos de 300 mg/día y se mantuvo constante a lo largo de los tres períodos de intervención dietética. La dieta se realizó en base a 14 menús rotatorios previamente establecidos utilizando alimentos naturales y calibrados para administrar las proporciones establecidas en cada período de dieta. Estas dietas se administraron y consumieron por los voluntarios del estudio en el comedor del Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba). En el cálculo de los nutrientes se utilizaron las tablas de composición de los alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. El control y adherencia de los voluntarios a la dieta se realizó mediante el análisis de la composición en AG de los ésteres de colesterol de las LDL al final de cada uno de los períodos de intervención dietética. Además, se analizó la composición en principios inmediatos y AG de los homogeneizados realizados con los diferentes menús consumidos por los participantes en el estudio. A la finalización de cada uno de los períodos de intervención dietética, todos los individuos se sometieron a un estudio de lipemia postprandial.

3.- Métodos

3.1. Estudio de la lipemia postprandial

El estudio de la lipemia postprandial se realizó de forma similar a lo descrito en nuestros estudios previos

(Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17:1765-1773; J Lipid Res 1998; 39:2493-2500; Atherosclerosis 2000).

Tras 12 horas de ayunas, recibieron en el tiempo 0 una comida grasa de composición igual a la que consumía cada individuo en cada período de intervención dietética, consistente entre la mitad y dos tercios de las calorías diarias ingeridas habitualmente por el individuo y compuesta de 1g de grasa, 7 mg de colesterol y 40 equivalentes de retinol por kilogramo de peso, con la siguiente distribución calórica: 60% grasa, 15% proteínas y 25% HC. Se realizaron extracciones de 10 mL de sangre venosa en tubos conteniendo Citrato sódico (0.129M) y otros 10 mL de sangre venosa en tubos conteniendo EDTA (10 mM) en el tiempo 0 y a las 2, 4, 6 y 8 horas de la administración de la comida grasa.

La composición en grasa de las comidas para el estudio de la lipemia postprandial fue la siguiente:

1. Comida rica en grasa saturada (AGS): 35% AGS, 19% AGM, 6.3% AGP, 0.7% ácido linolénico

2. Comida rica en grasa monoinsaturada (AGM), a expensas de aceite de oliva virgen: 15.8% AGS, 38% AGM, 6.3% AGP, 0.7% ácido α -linolénico.

3. Comida con la misma proporción en grasa de la dieta HC y rica en grasa poliinsaturada (AGP) n-3 (HC/n3) a expensas de fuentes vegetales: 20% AGS, 24% AGM, 16% AGP, 4% ácido α -linolénico.

Las determinaciones de colesterol y TG se realizaron por métodos colorimétricos-enzimáticos. Como control de calidad se usó el C-fas (Roche). Los niveles plasmáticos de las apolipoproteínas A-I y B se determinaron por nefelometría inmunológica. Las diferentes lipoproteínas plasmáticas (VLDL, LDL, HDL) se aislaron por ultracentrifugación en gradientes de

densidad en un rotor Beckman tipo SW-60 (45000 rpm, 4° C, 22 horas).

3.1.1. *Aislamiento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos*

Los Qm se aislaron mediante ultracentrifugación secuencial de 4 ml (28,000 g, 30 min, 4°C) en un rotor Beckman tipo 50. Los remanentes de Qm se aislaron en una ultracentrifugación posterior del infranadante previo a una densidad de 1019 g/mL durante 24 horas, 115,000 g en el mismo rotor.

3.1.2. *Ánisis de los ácidos grasos presentes en plasma*

Un vial de 4 mL con 300-400 µL de plasma fue introducido en un congelador a -80°C. El plasma congelado se liofilizó y el sólido resultante se sometió a metilación con metanol en medio ácido en caliente. La solución se extrajo con heptano y se evaporó en corriente de nitrógeno hasta un volumen de 200 µL. Una alícuota (5 µL) de la solución con los ésteres metílicos de los AG fue inyectada en el cromatógrafo de gases para su análisis. Se usó un cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard 5890, series II) equipado con un inyector automático (Agilent 6890 series II), un inyector tipo "split", un detector de ionización de llama y un sistema computerizado para el tratamiento de los datos Chemstation (Agilent). Las separaciones se realizaron sobre una columna capilar de sílice fundida SP-2380 (Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A) de 60 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno, impregnada con cianopropilpolisilicona (0,22 µm de espesor de fase). Las condiciones de temperatura del horno fueron: temperatura inicial de 160°C durante 8 min, posterior programación a

2°C/min hasta alcanzar los 220°C, temperatura a la que se mantuvo durante 12min. Se utilizó hidrógeno como gas portador, con una presión de 20 psi en cabeza de columna. Las temperaturas del inyector y el detector fueron 210 y 250°C, respectivamente.

3.2. Determinación de tPA

La determinación cuantitativa de tPA se realizó por un ensayo inmunoenzimático mediante el kit comercial (Roche, Diagnostica Stago, USA). Las muestras de sangre se recogerán en tubos con citrato sódico (0.11 mol/L).

3.3. Determinación de la actividad del PAI-1

La actividad del PAI-1 se determinó mediante un ensayo enzimático indirecto por el kit comercial Spectrolyse PL PAI-1 (Biopool, Trinity biotech, Ireland).

3.4. Determinación de Dímeros D

Los Dímeros D se determinaron por un ensayo inmunoenzimático mediante el kit comercial Tintelize-D-dimer (strip-well format) (Biopool, Trinity biotech, Ireland).

3.5. Determinación del FVII coagulante

El FVII coagulante se analizó por un ensayo cromogénico en dos etapas conteniendo tromboplastina de placenta humana (COASET FVII, Chromogenics AB, Mölndal, Sweden)

3.6. Determinación del Tromboxano B2

La determinación de los niveles de Tromboxano B2 se realizó mediante un ensayo inmunoenzimático con un kit comercial (Tromboxane B2 immunoassay, R&D Systems

Inc. USA). Las muestras de sangre se recogieron en tubos con EDTA (10mM) y se centrifugaron a 1000 g durante 15 minutos e inmediatamente se almacenaron a -80°C hasta su determinación.

3.7. Determinación de Peróxidos Lipídicos

Para el análisis de peróxidos lipídicos en plasma se utilizó el kit comercial LPO-CC Assay® (Kamiya Biomedical Company™, Seattle, USA) basado en un método colorimétrico cuantitativo.

3.8. Determinación de Nitratos/Nitritos en Plasma

Para su determinación se purificaron las muestras con filtros Microcon YM-10® (Micon Bioseparations, Millipore™, Billerica, MA, USA). Tras equilibrar cada filtro con agua ultrapura, se cargaron 200 µL de plasma EDTA de cada muestra y se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 minutos. Posteriormente se ensayaron, por muestra y duplicado, 80 µL de este filtrado con el kit comercial Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit® (Cayman Chemical™, Ann Arbor, MI, USA).

4.- Análisis estadístico

En el estudio estadístico de los datos se utilizó el programa SPSS® versión 11.0 para Windows®. En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos los valores de p inferiores a 0,05. Se utilizaron los siguientes parámetros estadísticos:

- Para contrastar la normalidad de la distribución de las variables: test de Kolmogorov-Smirnov.
- Para el análisis descriptivo de variables cualitativas: frecuencias y porcentajes; de variables cuantitativas: media aritmética y desviación estándar (DE).

- Para la comparación de medias aritméticas entre muestras apareadas: análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas, para determinar el efecto de las diferentes dietas sobre los diferentes parámetros estudiados. Cuando se observaron diferencias significativas se realizó el test de Bonferroni en comparación post-hoc para identificar las diferencias existentes entre cada grupo. Para contrastar dos muestras apareadas se aplicó la prueba "t" de Student. Cuando no se cumplieron los criterios de normalidad se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney.

- Para la comparación de medias aritméticas entre muestras independientes: prueba "t" de Student y el test de ANOVA según el análisis incluya a dos o más variables, respectivamente. Cuando no se cumplían los criterios de normalidad se utilizó la prueba de Wilcoxon.

- Se calculó el coeficiente de correlación lineal r de Pearson para relacionar las distintas variables. Se realizaron los correspondientes análisis de regresión lineal múltiple.

RESULTADOS

1.-CARACTERÍSTICAS BASALES

En la **tabla 14** se muestran las características basales de los participantes en el estudio (20 hombres), antes de la intervención dietética.

VARIABLE	MEDIA ± DE	RANGO
Edad (años)	23,31 ± 2,17	20-26
IMC (Kg.m ⁻²)	24,63 ± 2,87	20,20-29,68
CT (mg.dL ⁻¹)	141,73 ± 22,24	100,1-204
LDL (mg.dL ⁻¹)	81,54± 20,31	51,1 -154
HDL (mg.dL ⁻¹)	44,55 ± 7,69	28,1-62
TG (mg.dL ⁻¹)	78,25± 36,93	33,3-220
ColQm(mg.dL-1)	2,07 ± 1,18	0,08-5,16
TgQm(mg.dL-1)	7,41 ± 0,6	0,56-39,88
ColRQm (mg.dL-1)	6,47 ± 3,53	0,72-18,64
TgRQm(mg.dL-1)	22,91 ± 15,62	4,76-85,4
Glucosa (mg.dL ⁻¹)	84,17 ± 6,45	72,3-106
Insulina	8,27 ± 8,1	0,2-47

Tabla 14: Características basales de los participantes.

DE= desviación estándar; IMC= índice de masa corporal; CT= colesterol total; LDL= colesterol en lipoproteínas de baja densidad; HDL= colesterol en lipoproteínas de alta densidad; TG= triglicéridos; ColQm= colesterol en quilomicrones; TgQm= triglicéridos en quilomicrones; ColRQm= colesterol en remanentes de quilomicrones; TgRQm= triglicéridos en remanentes de quilomicrones

2.-ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS PLASMÁTICOS EN EL PERÍODO DE INTERVENCIÓN DIETÉTICA Y TRAS EL PERÍODO POSTPRANDIAL

AG	DIETA		
	SAT	OLIVA	N-3
14:0	0,53 ± 0,18*	0,4 ± 0,12	0,38 ± 0,16
16:0	21,95 ± 1,40 [#]	21,16 ± 1,54	20,79 ± 1,04
18:1 (n-9)	18,24 ± 2,13	20,12 ± 2,7 ^{\$}	17,80 ± 2,42
18:2 (n-6)	23,30 ± 2,15	22,00 ± 2,90	25,90 ± 1,64 ^{&}
18:3 (n-3)	0,34 ± 0,07	0,35 ± 0,08	0,41 ± 0,15

Tabla 15: Análisis de la composición en ácidos grasos (% respecto al total de ácidos grasos) tras las dietas

Los valores están representados como media ± desviación estándar.

*: p < 0,05 SAT vs OLIVA y N-3

#: p=0,032 SAT vs N-3

\$: p < 0,05 OLIVA vs SAT y N-3

&: p < 0,05 N-3 vs SAT y OLIVA

Una vez finalizado el período de intervención dietética, se procedió a la determinación de la composición en AG del plasma (**Tabla 15**). Estos datos sugieren que la ingesta de las tres dietas tiene un efecto directo sobre la composición de los AG presentes en el plasma. Tras el consumo de la dieta rica en AGS (SAT) se produjo un incremento de los ácidos mirístico y palmítico (p<0,05 y 0,032, respectivamente). Por otra parte, la dieta OLIVA incrementó los niveles de ácido oleico (p<0,05) mientras que la administración de una rica en HC y AGP n-3 de origen vegetal aumentó los niveles de ácido linoleico y linolénico, aunque sólo se alcanzó la significación estadística con el ácido linoleico.

Á.G	0 horas			3 horas		
	D.AGS	D.AGM	D.n-3	D.AGS	D.AGM	D.n-3
14:0	0,53±0,18*	0,4±0,12	0,38±0,16	1,4±0,43*	0,3±0,15	0,4 ± 0,15
16:0	21,95±1,4 [#]	21,16±1,54	20,79±1,04	23,1±0,71*	20,05±0,84	20,10±1,38
18:1	18,24±2,13	20,12±2,7 ^{\$}	17,80±2,42	18,35±2,3	27,43±3,98 ^{\$}	17,5±1,21
18:2	23,30±2,15	22,00±2,90	25,90±1,64 ^{&}	23,10±1,1	21,90±2,28	30,15±1,6 ^{&}
18:3	0,34±0,07	0,35±0,08	0,41±0,15	0,38±0,12	0,38±0,04	1,88±0,63 ^{&}

Tabla 16. Análisis de la composición en ácidos grasos (% respecto al total de ácidos grasos) durante el estado postprandial (media±DE).

*=p< 0,05 SAT vs OLIVA y N-3

\$=p< 0,05 OLIVA vs SAT y N-3

&=p< 0,05 N-3 vs SAT y OLIVA

D.AGS= Desayuno rico en ácidos grasos saturados; D.AGM: Desayuno rico en ácidos grasos monoinsaturados; D.n-3: Desayuno rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3

Una vez finalizado el período postprandial, se procedió a la determinación de la composición en AG del plasma (**Tabla 16**). Estos datos sugieren que la ingesta de los tres desayunos tiene un efecto directo sobre la composición de los AG presentes en el plasma en el período postprandial. Tras el desayuno rico en mantequilla se produjo un incremento de los ácidos mirístico y palmítico (p<0,05). Por otra parte, el desayuno rico en aceite de oliva incrementó los niveles de ácido oleico (p<0,05), mientras que la ingesta de una sobrecarga rica en nueces aumentó los niveles de ácido linoleico y linolénico (p<0,05).

3.- RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y PARÁMETROS DE HEMOSTASIA

3.1. FACTOR VII COAGULANTE

Al evaluar la respuesta global de la actividad del FVIIc a la intervención crónica más la sobrecarga aguda, mediante un ANOVA de medidas repetidas con dos factores intrasujetos (dieta y tiempo de extracción como expresión del efecto postprandial), se observó un claro efecto del tiempo de extracción, al encontrarse una menor media global en el postprandio comparada con la encontrada en ayunas. También se encontró significación estadística de la interacción del tiempo con la dieta, mientras que el efecto global de la dieta rozó la significación estadística (**Figura 7 y Tabla 17**).

Se evaluaron posteriormente las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción. El análisis post-hoc ajustado por el método de Bonferroni mostró que, mientras no existieron diferencias en ayunas, el FVIIc a las 4 horas tras la dieta con aceite de oliva fue menor que tras la dieta saturada ($p=0,015$) y que tras la rica en n3 ($p=0,031$). Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de FVIIc en cada dieta, usando una prueba de t-Student para datos pareados comparando los valores basales con los postprandiales (**Tabla 17**), observándose una disminución en el postprandio tras la toma de la comida rica en aceite de oliva ($p=0,003$) y de la comida rica en nueces ($p=0,050$).

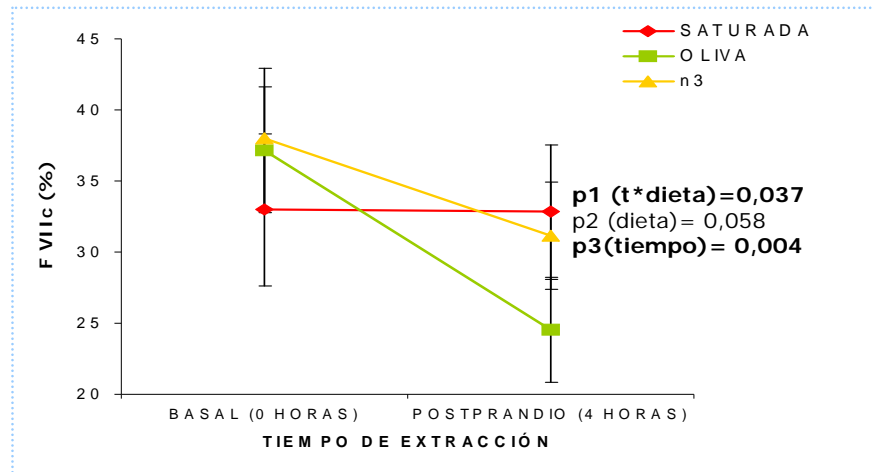


Figura 7: Actividad de FVIIc (%) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±ES). ANOVA de medidas repetidas
 p1= efecto de la interacción tiempo-dieta; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

FVIIc (%)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT	32,99±23,31	32,82±20,70 ^a	0,641	
OLIVA	37,18±19,26	24,55±16,08 ^b			
N-3	38,00±21,51	31,13±16,38 ^a			
	p ANOVA	Dieta 0,058			interacción 0,037

Tabla 17: Actividad de FVIIc (%) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas
 Las intervenciones en la misma columna con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre sí.

Quando se analiza el cambio entre estado en ayunas y postprandial en valores absolutos, se observan diferencias al comparar el cambio inducido por la sobrecarga con AGS con el que se produce tras la sobrecarga con aceite de oliva ($p=0,033$). (Figura 8).

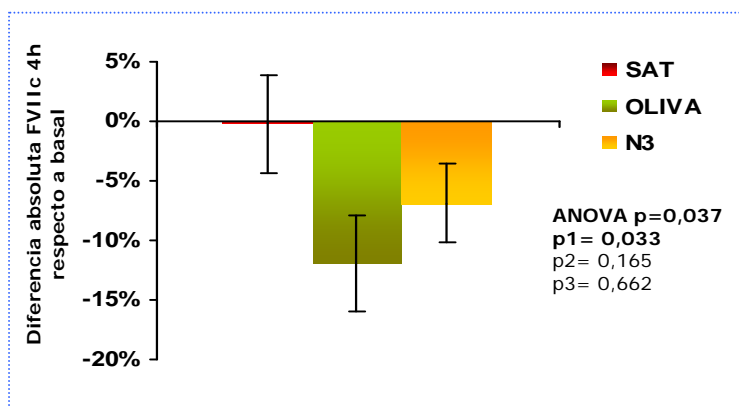


Figura 8: Diferencia absoluta respecto al basal de FVIIc tras un desayuno(%). ANOVA
 p1= Diferencia SAT-OLIVA; p2=Diferencia SAT-N3; p3=Diferencia OLIVA-N3

3.2. PAI-1

Siguiendo el mismo modelo, se realizó un ANOVA para medidas repetidas comparando las tres dietas en ayunas y postprandio. Al evaluarse de forma conjunta, no se encontró diferencia entre las concentraciones en el tiempo basal y el postprandial. Se observa un efecto significativo de la dieta independientemente del tiempo estudiado con mayores niveles globales en la dieta saturada frente a la dieta con AG n-3 ($p=0,042$). También resultó significativa la interacción tiempo-dieta, indicando la diferente evolución de cada dieta entre la extracción basal y la postprandial. (**Figura 9, Tabla 18**).

Se evaluaron posteriormente las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado. No existieron diferencias en ayunas, pero el PAI-1 a las cuatro horas tras la sobrecarga con mantequilla fue mayor que tras las comidas ricas en nueces ($p=0,013$) o aceite de oliva ($p=0,042$).

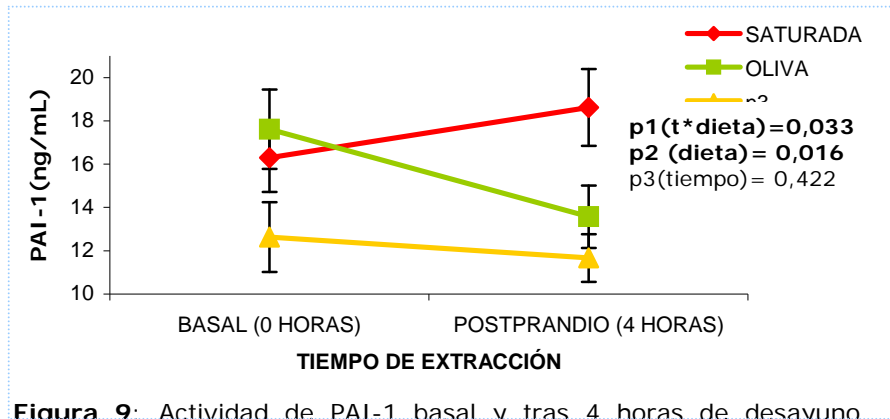


Figura 9: Actividad de PAI-1 basal y tras 4 horas de desayuno (media±ES). ANOVA de medidas repetidas
 p1= efecto de la interacción tiempo-dieta; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de PAI-1 en cada dieta. Se observó un descenso de los niveles en el postprandio tras la comida rica en aceite de oliva ($p=0,028$), sin mostrar cambios tras la ingesta de mantequilla o nueces (**Tabla 18**).

PAI-1 (ng/mL)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT		16,30±7,08	18,62±7,92 ^a	0,189
OLIVA		17,61±8,22	13,47±6,50 ^b	0,028	
N-3		12,63±7,21	11,67±4,93 ^b	0,633	
p ANOVA	Dieta	0,016			interacción 0,033

Tabla 18: Actividad de PAI-1 (ng/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas

Las intervenciones en la misma columna con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre sí

Al analizar la diferencia absoluta del cambio, la sobrecarga con mantequilla genera una diferencia mayor que

la sobrecarga con aceite de oliva, con significación estadística ($p=0,041$) (**Figura 10**).

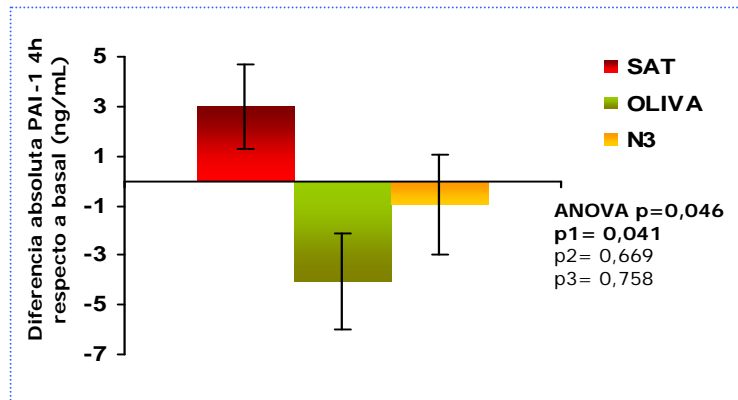


Figura 10: Diferencia absoluta respecto al basal de PAI-1(ng/mL) tras un desayuno. ANOVA
 $p1=$ Diferencia SAT-OLIVA; $p2=$ Diferencia SAT-N3; $p3=$ Diferencia OLIVA-N3

3.3. tPA

Al evaluarse de forma conjunta, se encontró diferencia entre las concentraciones en el tiempo basal y el postprandial, independientemente de la dieta y la sobrecarga consumida, disminuyendo de forma significativa las concentraciones de tPA a las 4 horas de la ingesta. No existió efecto diferencial entre dietas, ni efecto de la interacción. (**Figura 11, Tabla 19**)

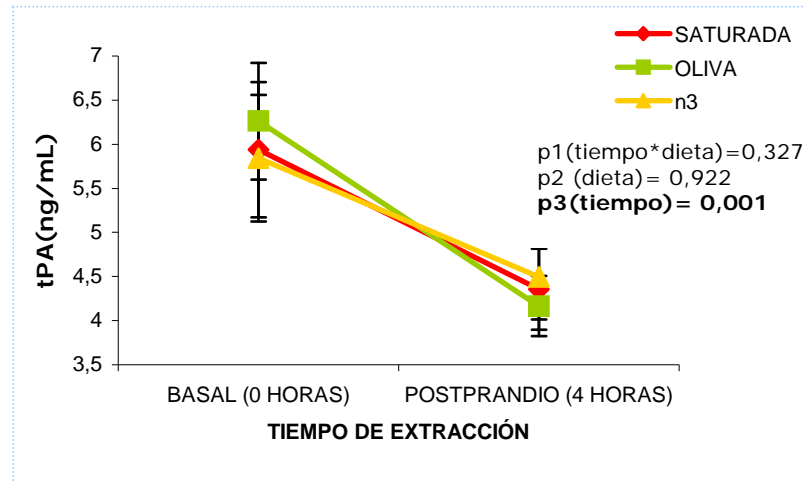


Figura 11: Concentración de tPA (ng/mL) basal y tras 4 horas de desayuno. ANOVA de medidas repetidas
 p1= efecto de la interacción tiempo-dieta; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

Se evaluaron las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado. No existieron diferencias en ayunas, ni en postprandio. Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de tPA en cada dieta, usando una prueba de t de Student para datos pareados comparando los valores basales con los postprandiales. Las tres dietas provocaron una disminución en los valores de tPA en el postprandio (**Tabla 19**).

tPA (ng/mL)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT	5,43±3,12	4,35±2,05	0,001	
OLIVA	6,26±2,96	4,16±1,43	0,001		
N-3	5,84±3,20	4,49±2,15	0,001		
p ANOVA	Dieta	0,922		Interacción	0,327

Tabla 19: Concentración de tPA (ng/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas

Al comparar las diferencias absolutas respecto al basal, el mayor decremento en la concentración postprandial de tPA correspondió a la sobrecarga con aceite de oliva, aunque no mostró diferencia significativa con las otras sobrecargas (**Figura 12**).

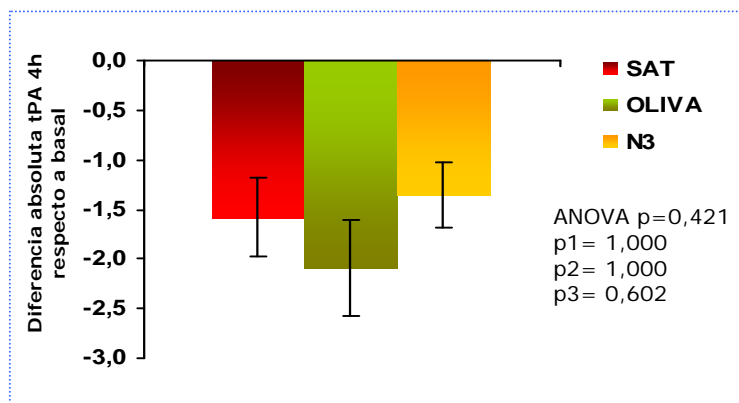


Figura 12: Diferencia absoluta respecto al basal de tPA tras un desayuno (ng/mL). ANOVA
 p1= Diferencia SAT-OLIVA; p2=Diferencia SAT-N3; p3=Diferencia OLIVA-N3

3.4. COCIENTE tPA/PAI-1

Se realizó un ANOVA para medidas repetidas comparando las tres dietas en ayunas y postprandio. Al evaluarse de forma conjunta, se encontró diferencia entre las concentraciones en el tiempo basal y el postprandial, con menores niveles en el postprandio. Se observa un efecto significativo de la dieta independientemente del tiempo estudiado, con mayores niveles globales en la dieta N-3 frente a la dieta con AGS (p=0,013). No resultó significativa la interacción tiempo-dieta. (**Figura 13, Tabla 20**).

tPA/PAI-1 (cociente)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	P t Student apareadas	p ANOVA
	SAT	0,38±0,04	0,26±0,03 ^a	0,003	
OLIVA	0,42±0,08	0,37±0,04 ^b	0,489		
N-3	0,59±0,10	0,45±0,06 ^b	0,169		
p ANOVA	Dieta 0,044			Interacción 0,581	

Tabla 20: Concentración de tPA/PAI-1 (cociente) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas.

Las intervenciones en la misma columna con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre sí

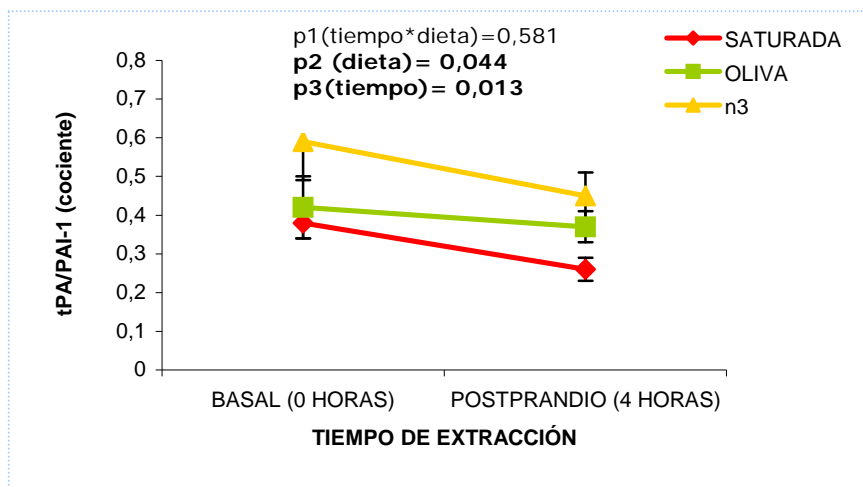


Figura 13: Concentración de tPA/PAI-1 basal y tras 4 horas de un desayuno. ANOVA de medidas repetidas

p1= efecto de la interacción tiempo-dieta; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

Se evaluaron las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado, no existiendo diferencias en ayunas. En el postprandio, tras la comida rica en mantequilla se evidenció menor cociente tPA/PAI-1 frente a las otras dos comidas (p=0,021 vs aceite de oliva y p=0,002 vs nueces). Al evaluar el efecto del postprandio, se observó un descenso tras la comida rica en mantequilla (p=0,003).

3.5. DÍMERO D

Al analizar los niveles de Dímero D en situación basal y en el postprandio, se encontró una mayor media para los valores en el postprandio frente a los valores en ayunas ($p=0,014$), pero no se encontraron diferencias en dieta ni interacción (**Figura 14, Tabla 21**).

Se evaluaron posteriormente las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado. No existieron diferencias ni en ayunas ni a las 4 horas tras la ingesta aguda. Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de Dímero D en cada dieta, produciéndose tras la comida rica en mantequilla, un aumento de la concentración estadísticamente significativo, no encontrándose este efecto tras las otras dos sobrecargas (**Tabla 21**).

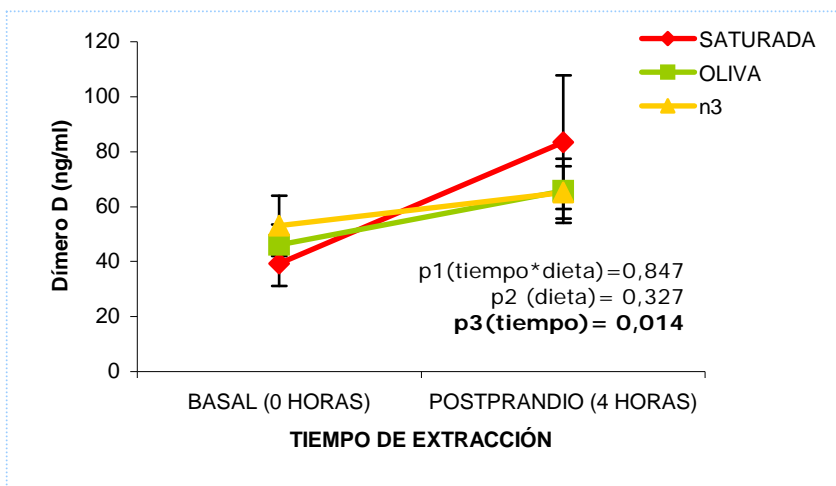


Figura 14: Dímero D (ng/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno. ANOVA de medidas repetidas

p1= efecto de la interacción dieta-tiempo; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

Dímero D (ng/ml)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT		39,21±33,94	81,44±103,98	0,047
OLIVA		46,13±30,98	65,48±49,62	0,939	
N-3		53,01±46,63	65,08±40,50	0,166	
	p ANOVA	dieta 0,327			interacción 0,847

Tabla 21: Concentración de Dímero D (ng/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas

Tras las tres sobrecargas, al analizar la diferencia absoluta respecto al basal, no se encontraron diferencias entre las tres sobrecargas (**Figura 15**).

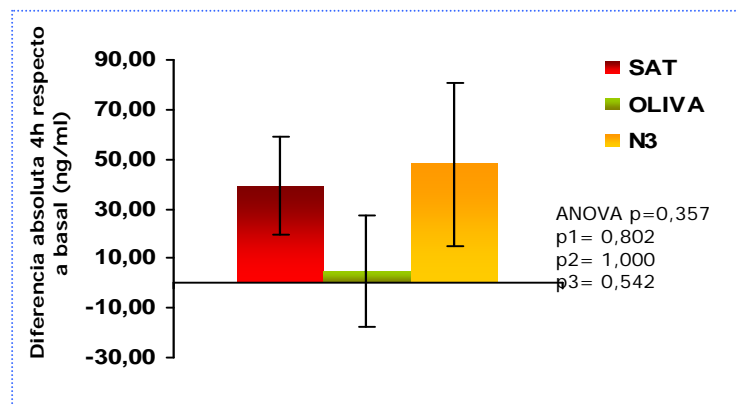


Figura 15: Diferencia absoluta respecto al basal de DD tras un desayuno (ng/mL). ANOVA p1= Diferencia SAT-OLIVA; p2=Diferencia SAT-N3; p3=Diferencia OLIVA-N3

3.6. TROMBOXANO B2

En el ANOVA global de todos los sujetos, los valores medios en el postprandio fueron mayores que en ayunas ($p=0,001$), pero no se encontraron diferencias relacionadas con la dieta ni en la interacción tiempo-dieta (**Figura 16**, **Tabla 22**).

Se evaluaron posteriormente las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado. No existieron

Resultados

diferencias en ayunas, ni a las cuatro horas tras la ingesta. Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de TxB2 en cada dieta encontrándose una elevación en el postprandio, estadísticamente significativa tras las tres sobrecargas (**Tabla 22**).

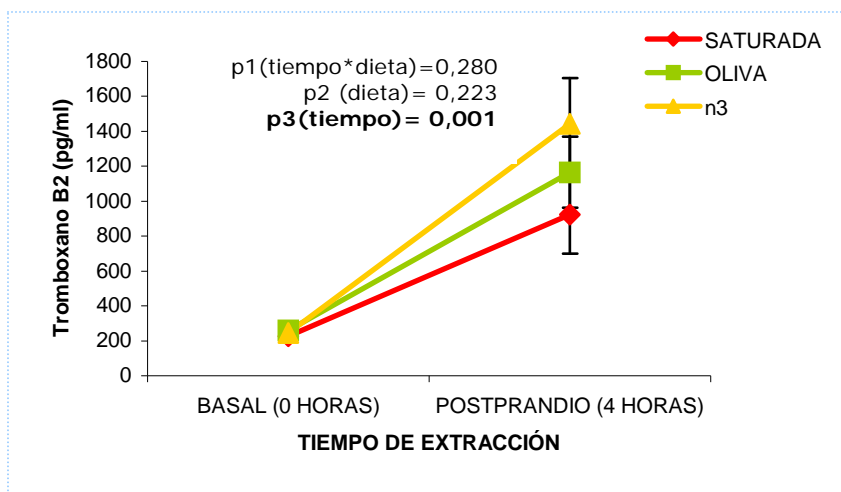


Figura 16: Tromboxano B2 (pg/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno. ANOVA de medidas repetidas
 p1= efecto de la interacción tiempo-dieta; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

Tromboxano B2 (pg/ml)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT	224,92±88,88	922,64±742,41	0,004	
OLIVA	259,45±160,26	1165,45±670,42	0,024		
N-3	245,28±120,11	1442,23±869,41	0,001		
	p ANOVA	dieta 0,223			interacción 0,280

Tabla 22: Concentración de Tromboxano B2 (pg/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA de medidas repetidas y t de Student para muestras apareadas

No existió tampoco diferencia significativa entre la diferencia de concentraciones, en valores absolutos, generada por cada sobrecarga en el postprandio (**Figura 17**).

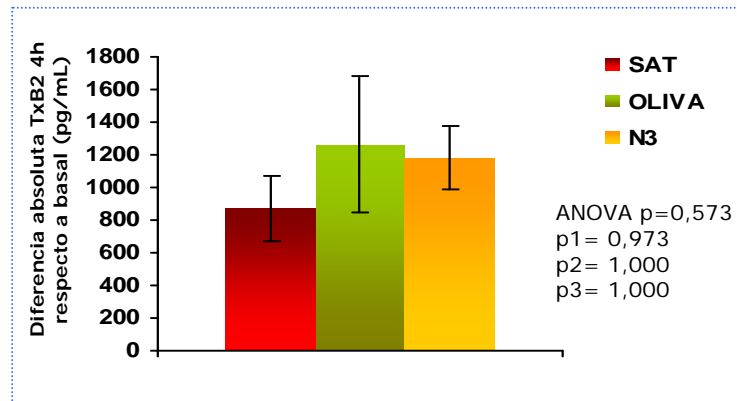


Figura 17: Diferencia absoluta respecto al basal de TxB2 tras un desayuno (pg/mL). ANOVA
 p1= Diferencia SAT-OLIVA. p2=Diferencia SAT-N3. p3=Diferencia OLIVA-N3

4.- RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y BIODISPONIBILIDAD DE ÓXIDO NÍTRICO

En el ANOVA de medidas repetidas, encontramos un efecto del tiempo, con una mayor biodisponibilidad de NO previo a la ingesta aguda de grasa (**Figura 18, Tabla 23**). No hay diferencias atribuidas a la dieta o a la interacción de tiempo y dieta.

Se evaluaron posteriormente las tres dietas tanto en el tiempo basal como a las 4 horas. No existieron diferencias en ayunas, ni en el postprandio. Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de NO en cada dieta, siendo la sobrecarga con nueces la única que no producía un cambio significativo en el postprandio, mientras las sobrecargas con mantequilla o aceite de oliva descienden la biodisponibilidad de NO en el postprandio (**Tabla 23**).

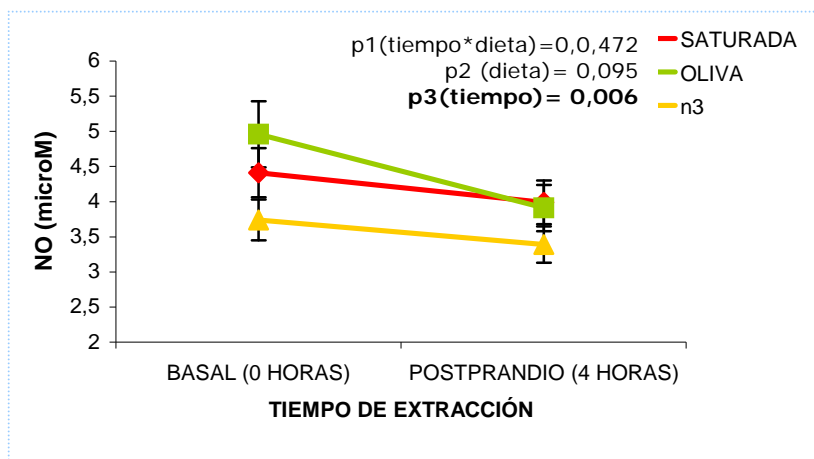


Figura 18: NO (µM) basal y tras 4 horas de un desayuno. ANOVA de medidas repetidas
 p1= efecto de la interacción dieta-tiempo; p2= efecto de la dieta; p3= efecto del tiempo

NO (µM)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT	4,41 ± 0,35	3,99 ± 0,31	0,026	
OLIVA	4,96 ± 0,47	3,91 ± 0,33	0,003		
N-3	3,74± 0,29	3,39 ± 0,26	0,188		
	p ANOVA	dieta 0,095			interacción 0,472

Tabla 23: Concentración de NO (µM) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA para muestras repetidas y t de Student para muestras apareadas

La diferencia absoluta del postprandio respecto a la situación basal fue negativa tras las tres sobrecargas, sin evidenciarse diferencia entre ellas. **(Figura 19).**

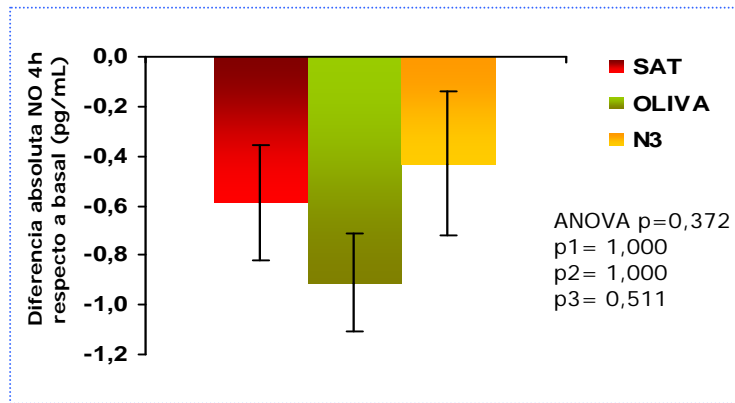


Figura 19: Diferencia absoluta respecto al basal de NO tras un desayuno. ANOVA

p_1 = Diferencia SAT-OLIVA; p_2 =Diferencia SAT-N3; p_3 =Diferencia OLIVA-N3

5.- RELACIÓN ENTRE DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y LIPOPERÓXIDOS

En el ANOVA global de todos los sujetos, se observó efecto del tiempo, con mayores niveles de LPO en el postprandio independientemente de la comida administrada; de la dieta (con mayor concentración con la dieta N-3 que con la SAT, independientemente del tiempo analizado, $p=0,026$) y de la interacción tiempo-dieta (**Figura 20, Tabla 24**).

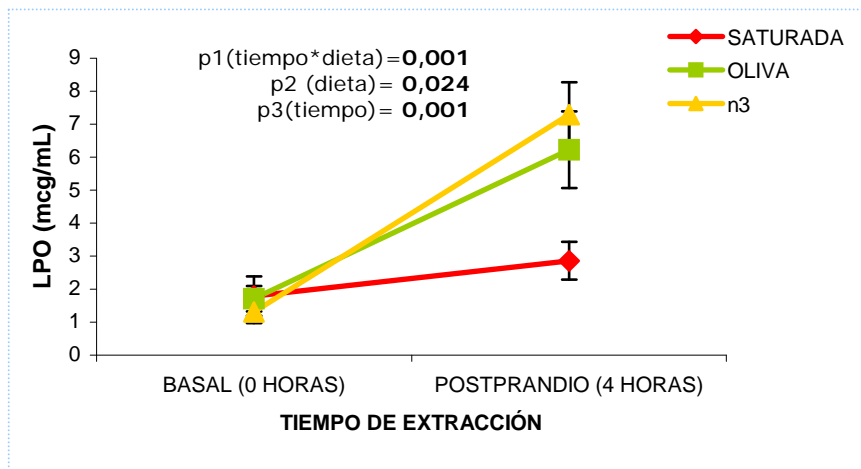


Figura 20: LPO (mcg/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno. ANOVA de medidas repetidas

p_1 = efecto de la interacción tiempo-dieta; p_2 = efecto de la dieta; p_3 = efecto del tiempo

Se evaluaron posteriormente las tres dietas en cada uno de los tiempos de extracción por separado. No existieron diferencias en ayunas pero, en el postprandio, los niveles tras la sobrecarga saturada fueron menores que tras la sobrecarga con nueces ($p=0,002$), y de forma casi significativa con el aceite de oliva ($p=0,065$). Finalmente, estudiamos el efecto del postprandio en los niveles de LPO en cada dieta, usando una prueba de t de Student para datos pareados comparando los valores basales con los postprandiales, encontrándose elevación estadísticamente significativa tras las sobrecargas con nueces y aceite de oliva (**Tabla 24**).

LPO (mcg/mL)	Dieta	Basal	Postprandial 4 Horas	p t Student apareadas	p ANOVA
	SAT		1,79 ± 0,60	2,86 ± 0,57 ^b	0,177
OLIVA		1,71 ± 0,38	6,23 ± 1,16 ^{a,b}	0,003	
N-3		1,31 ± 0,34	7,29 ± 0,98 ^a	0,001	
	p ANOVA		dieta 0,024		interacción 0,001

Tabla 24: Concentración de LPO (mcg/mL) basal y tras 4 horas de un desayuno (media±DE). ANOVA para muestras repetidas y t de Student para muestras apareadas

Las intervenciones en la misma columna con superíndices distintos son estadísticamente diferentes entre sí

Al analizar la diferencia absoluta de las concentraciones de LPO postprandiales respecto al basal, se observó un aumento en las tres sobrecargas, que fue superior de forma significativa con la sobrecarga con aceite de oliva y nueces frente a la sobrecarga con mantequilla (**Figura 21**)

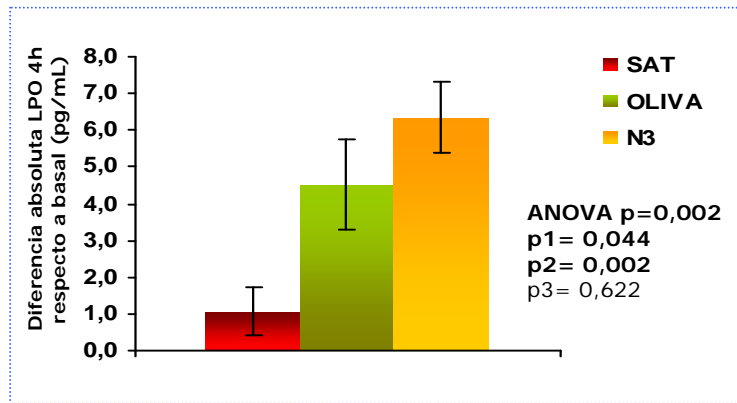


Figura 21: Diferencia absoluta respecto al basal de LPO tras un desayuno (mcg/mL). ANOVA
p1= Diferencia SAT-OLIVA; p2=Diferencia SAT-N3; p3=Diferencia OLIVA-N3

6.- RELACIÓN ENTRE LA DIETA Y SOBRECARGA GRASA Y LIPEMIA POSTPRANDIAL

En el análisis de la lipemia postprandial no se encontraron diferencias de efecto entre las dietas sobre las áreas bajo la curva (AUC) de las concentraciones plasmáticas de TG, CT, LDL, HDL, apo A1, apo B, ni de CT y TG en las partículas de rQm. Se evidenciaron unas concentraciones de CT en rQm significativamente mayores en SAT que en OLIVA y N-3. (**Tabla 25**).

Fracciones lipoproteicas	AUC (mg/dL ^x h)			p
	DIETAS			
	SATURADA	OLIVA	N-3	
Colesterol	101289±15889	99053±15.660	96781±16322	0,17
LDL	57443±15055	54825±13407	53270±15665	0,13
HDL	303134±5262	30465±5111	29884±5407	0,56
TG	68825±37945	67983±30634	68568±38852	0,98
TGQm	16923±13149	19374±12144	16616±11755	0,49
ColQm	3237±1386	2797±1446	2469±834	0,04
ColRQm	4.279±2546	4121±1833	3969±1849	0,53
TGRQm	15353±11297	15054±7682	15187±9270	0,99
apoA1	85963±12201	86386±10240	85041±11466	0,62
apoB	46353±9589	45342±8650	43895±9142	0,16

Tabla 25: Valores de las áreas relativizadas bajo la curva de los diferentes parámetros de lipemia postprandial. ANOVA de medidas repetidas

DD= dímero D; CT= colesterol total; LDL=colesterol LDL; HDL= colesterol HDL; TG= triglicéridos; Col(R)Qm: colesterol en (remanentes de) quilomicrones; TG(R)Qm= triglicéridos en (remanentes de) quilomicrones; ApoA1= apolipoproteína A1; ApoB= apolipoproteína B

7.- ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

Se evaluó la posible relación entre las distintas fracciones lipoproteicas y los parámetros de hemostasia en situación basal (**Tabla 26**). La actividad de PAI-1 mostró correlación positiva con las concentraciones plasmáticas basales de colesterol total, LDLc, apoA1 y apoB. Se observó una correlación negativa entre los niveles de HDLc y tPA basales, así como una correlación positiva entre éste y las concentraciones de TG y TGQm.

R p	CT basal	LDL basal	HDL basal	TG Basal	ColQm basal	TGQm basal	apoA1 basal	ApoB Basal
FVIIc basal	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PAI-1 basal	0,41 0,001	0,34 0,008	n.s.	0,25 0,058	n.s.	n.s.	0,26 0,043	0,38 0,003
tPA basal	n.s.	n.s.	-0,29 0,025	0,5 0,0001	n.s.	0,53 0,0001	n.s.	n.s.
DD basal	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 26: Análisis de correlación en situación basal de las diferentes fracciones lipídicas y los parámetros de hemostasia

DD= dímero D; CT= colesterol total; LDL=colesterol LDL; HDL= colesterol HDL; TG= triglicéridos; ColQm: colesterol en quilomicrones; TGQm= triglicéridos en quilomicrones; ApoA1= apolipoproteína A1; ApoB= apolipoproteína B

R p	Lp(a) basal	NO basal	LPO basal	Insulina basal	HOMA basal
FVIIc basal	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PAI-1 basal	n.s.	n.s.	n.s.	0,49 0,0001	0,52 0,0001
tPA basal	n.s.	n.s.	n.s.	0,42 0,002	0,43 0,002
DD basal	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 27: Análisis de correlación en situación basal de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO e insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia

DD= dímero D; Lp(a)=lipoproteína A; NO= óxido nítrico; LPO= lipoperóxidos; HOMA= Homeostasis Model Assessment

La concentración de insulina basal se correlacionó de forma positiva con la actividad del PAI-1 y los niveles de tPA basales. La resistencia a la insulina en situación basal se estimó mediante el índice HOMA (*Homeostatic Model Assessment*), calculado como Glucemia (mmol/L) x Insulina (μ U/L)/22,5. Se correlacionó de forma positiva con la actividad de PAI-1 y tPA basales (**Tabla 27**).

En situación postprandial, se mantienen las correlaciones positivas entre la insulinemia y el HOMA y la actividad del PAI-1 y la concentración de tPA (**Tabla 28**).

R p	Lp(a) 4h	NO 4h	LPO 4h	Insulina 4h	HOMA 4h
FVIIc 4h	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PAI-1 4h	n.s.	n.s.	n.s.	0,36 0,008	0,39 0,004
tPA 4h	n.s.	n.s.	0,35 0,006	0,44 0,001	0,3 0,031
DD 4h	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 28: Análisis de correlación en situación postprandial de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO e insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia.

DD= dímero D; Lp(a)=lipoproteína A; NO= óxido nítrico; LPO= lipoperóxidos; HOMA= Homeostasis Model Assesment

Al analizar la relación entre las variaciones con respecto a la situación basal en % de los distintos parámetros de hemostasia y las de las fracciones lipoproteicas, se observó una correlación positiva entre el incremento de DD y la variación de colesterol total y LDL. El incremento de tPA se correlacionó con el de la concentración de TG (**tabla 29**).

INCREMENTO RESPECTO AL BASAL (%)								
R P	CT	LDL	HDL	TG	ColQm	TGQm	apoA1	apoB
FVIIc	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PAI-1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
tPA	n.s.	n.s.	n.s.	0,27 0,038	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
DD	0,26 0,048	0,29 0,023	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 29: Análisis de correlación de las variaciones con respecto a la situación basal (%) de las diferentes fracciones lipídicas y de los parámetros de hemostasia

DD= dímero D; CT= colesterol total; LDL=colesterol LDL; HDL= colesterol HDL; TG= triglicéridos; ColQm: colesterol en Quilomicrones; TGQm= triglicéridos en quilomicrones; ApoA1: apolipoproteína A1; ApoB= apolipoproteína B

El incremento respecto al basal de las concentraciones de insulina se correlacionó de forma negativa con los niveles de tPA. Por

su parte, la variación con respecto al basal del HOMA se correlacionó de forma positiva con el incremento de la actividad del PAI-1. (**Tabla 30**)

INCREMENTO RESPECTO AL BASAL(%)					
R p	Lp(a)	NO	LPO	Insulina	HOMA
FVIIc	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PAI-1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,34 0,018
tPA	n.s.	n.s.	n.s.	-0,29 0,041	n.s.
DD	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabla 30: Análisis de correlación de las variaciones con respecto a la situación basal (%) de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO y la insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia DD= dímero D; Lp(a)=lipoproteína A; NO= óxido nítrico; LPO= lipoperóxidos; HOMA= Homeostasis Model Assessment

8.-REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE

En la **tabla 31** se resume el análisis de regresión lineal múltiple realizado en las dos variables principales del estudio: FVIIc y PAI-1.

V. D.	V. I.	R múltiple	R2 del cambio	P
FVIIc	CT	0,085	0,005	0,66
	TG	0,046	0,002	0,62
	NO	0,25	0,027	0,26
	HOMA	0,19	0,002	0,32
PAI-1	CT	0,44	0,012	0,002
	TG	0,18	0,031	0,054
	apoA1	0,32	0,071	0,005
	apoB	0,42	0,075	0,0001
	TgRQm	0,59	0,057	0,0001
	LPO	0,54	0,013	0,0001
	HOMA	0,52	0,27	0,0001

Tabla 31: Análisis de regresión lineal múltiple de las principales variables estudiadas.

VD= variable dependiente. VI= variable independiente; CT= colesterol total; LPO= lipoperóxidos; CT= colesterol total; LDL=colesterol LDL; HDL= colesterol HDL; TG=triglicéridos; NO= óxido nítrico; HOMA= Homeostasis Model Assessment; apoA1/B= apolipoproteína A1/B; TgRQm=triglicéridos en remanentes de quilomicrones

De este análisis se puede concluir que las variaciones en la resistencia a la insulina calculada mediante el HOMA explican el 27% de la variación en los niveles de PAI-1. Además, el CT, apoA1, apoB, TgRQm y LPO explicarían el 1,2%, 7,1%, 7,5%, 5,7% y 1,3%, respectivamente, de las variaciones de PAI-1. No encontramos parámetros que expliquen las variaciones de FVIIc.

DISCUSIÓN

Nuestros resultados indican que la ingesta de una comida rica en grasa provoca un estado hemostático postprandial protrombótico, reflejado en el aumento de TxB2 y DD y en el descenso de tPA, independientemente del modelo de grasa consumida. Este fenómeno resulta parcialmente atenuado si el vehículo graso es rico en aceite de oliva (AGM) o nueces (AGP) en lugar de mantequilla (AGS). Así, las dietas con alto contenido en aceite de oliva y nueces indujeron una disminución de los niveles de FVIIc postprandiales (medidos a las 4 horas tras la ingesta). Este descenso fue significativamente mayor en el caso del aceite de oliva, mientras que los niveles de FVIIc postprandiales tras el consumo de una comida rica en mantequilla no presentaron diferencias significativas con los niveles basales. Además, tras la ingesta de esta última se observa un mayor aumento de DD y PAI-1 y una mayor disminución del tPA/PAI-1 postprandiales que tras las otras dos comidas.

Por otra parte, no existen diferencias en la actividad del FVIIc en situación basal tras las tres dietas con esta diferente composición grasa.

Existe un creciente interés por los cambios de la hemostasia durante el postprandio, comprensible si tenemos en cuenta que los factores de la coagulación son protagonistas destacados en la evolución de la aterotrombosis, y que el estado postprandial es el habitual del ser humano en las poblaciones industrializadas. Se conoce que la elevación de los TG, por sí misma, provoca la activación del FVII. Los mecanismos propuestos para explicar esta activación del FVII en el postprandio incluyen: por una parte, el FVII se adhiere a

la fracción proteica de las partículas de TRL grandes⁴²⁴, de manera que, cuantas más uniones se producen, más disminuye su catabolismo y así aumentan las concentraciones circulantes⁴²⁵; y, por otra, la conversión del zimógeno inactivo de cadena simple del FVII en la forma activada de doble cadena, favorecida por los AG liberados tras la hidrólisis de TRL⁴²⁶.

El FVII es una proteína clave en el comienzo de la cascada de la coagulación. Su activación y unión con el FT inicia la llamada vía extrínseca, poniendo en marcha la reacción en cadena que culminará con la formación del coágulo sanguíneo. La actividad plasmática del FVII está influida por numerosas variables: estilo de vida, edad, género, tabaquismo, resistencia a la insulina, lípidos plasmáticos, fármacos, genética... Uno de los factores más determinantes es la alimentación, fundamentalmente su composición grasa⁴²⁷. Esta relación está bien establecida en ayunas, pero no sucede lo mismo en el período postprandial. Además, la mayoría de trabajos que analizan los componentes de la hemostasia en el postprandio describen el fenómeno postingesta de una sobrecarga aislada de nutrientes o compuestos artificiales que aportan las sustancias en forma de mezclas lipídicas para administración oral. Este tipo de intervención es sustancialmente diferente del modo natural de alimentación y sus resultados difícilmente pueden dar lugar a

⁴²⁴ Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 2003;166:73-84

⁴²⁵ de Sousa JC, Soria C, Ayrault-Jarrier M, et al. Association between coagulation factors VII and X with triglyceride rich lipoproteins. *J Clin Pathol* 1988;41:940-4

⁴²⁶ Mitropoulos KA, Miller GJ, Watts GF, Durrington PN. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins activates coagulant factor XII: a study in familial lipoprotein-lipase deficiency. *Atherosclerosis* 1992;95:119-25

recomendaciones alimentarias, ya que no se puede conocer el efecto del conjunto de los alimentos que los contienen.

Además de la activación del FVII, otros mecanismos, como la activación de las células mononucleares durante el postprandio, aumentan la expresión de factor nuclear KB (FNκB), desencadenante primario de la respuesta inflamatoria⁴²⁸. El inicio de esta respuesta unido al estado procoagulante que supone la activación de la cascada intrínseca de la coagulación produce un entorno claramente procoagulante y proinflamatorio, al que se suma un aumento en la agregabilidad plaquetaria mediada por marcadores de membrana (fundamentalmente tromboxanos). Estudios recientes han confirmado este escenario, demostrando un aumento de la fibrina intravascular en el postprandio, tanto en personas sanas como en enfermos coronarios⁴²⁹.

En el presente trabajo analizamos el efecto sobre la actividad de FVIIc tanto de tres tipos de alimentación, con distinta composición grasa (una rica en grasa saturada, otra típica mediterránea, rica en aceite de oliva, y una tercera con alto contenido en HC y AG n3), como el de una sobrecarga grasa con la misma composición que la dieta previa.

Los resultados hallados en la literatura sobre los cambios inducidos sobre el FVII por la ingesta de comidas con diferentes composiciones grasas son controvertidos. Diferencias en el diseño de los mismos, que afectan al número y características de los participantes (edad, estado de salud,

⁴²⁷ Miller GJ. Effects of diet composition on coagulation pathways. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 542S-545S

⁴²⁸ Bellido C, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, et al. Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor kappaB in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1487-91

⁴²⁹ Elmas E, Kalsch T, Suvajac N. Activation of coagulation during alimentary lipemia under real-life conditions. *Int J Cardiol* 2007; 2: 172-175

sexo), tipo de intervención alimentaria (cantidad y tipo de grasa, administración aguda o crónica) y variables medidas (FVIIc, FVIIa, FVIIag, FVIIam) pueden ser claves para explicar la dificultad al comparar dichos trabajos. En nuestro estudio, la ingesta de una comida rica en aceite de oliva provocó, a las 4 horas, un descenso de hasta un 34% respecto a los valores en ayunas de los niveles de FVII, en personas que previamente habían consumido una dieta rica en este aceite durante 4 semanas. Aunque existen inconsistencias sobre los efectos de los AGM sobre el FVII, nuestros hallazgos están de acuerdo con otros previos. Así, en el trabajo de Silva y cols.⁴³⁰, en el que participaron 51 jóvenes sanos, se evaluó el efecto del tipo de AG de la alimentación basal sobre la respuesta postprandial a una comida rica en AGS. Encontraron una disminución del incremento postprandial de FVIIc del 18% y del 50%, respectivamente, cuando los sujetos del estudio consumieron durante 8 semanas una dieta con una cantidad moderada o alta de AGM, comparado con una occidental estándar rica en AGS. Por su parte, Roche y cols.⁴³¹ describen también una atenuación del aumento del FVIIa postprandial tras una sobrecarga de AGS en el grupo que consumió una dieta rica en AGM, comparado con el que siguió una rica en AGS. Además, observan que en el grupo de la dieta de AGM el pico de FVIIa se produce a las 4 horas de la ingesta, mientras que en el de la dieta de AGS existe un aumento precoz (a las 4 horas), pero continúa aumentando en el período 4-8 h.

Algunos trabajos previos habían descrito un mayor aumento de FVII tras sobrecargas aisladas de AGM que tras

⁴³⁰ Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 2003;166:73-84

otros AG^{432,433}, si bien cuando se ha realizado previamente un periodo de dieta rica en AGM se han encontrado resultados similares a los nuestros^{434,435}.

En el estudio de Kelly *y cols.*, no existieron diferencias entre las concentraciones basales de FVIIa tras la ingesta de una dieta rica en AGS o AGM durante 8 semanas, pero destacó que el pico alcanzado tras la ingesta de una sobrecarga de igual composición fue menor tras la dieta rica en AGM que el observado tras la dieta de referencia rica en AGS. Además, el incremento postprandial (diferencias entre los valores postprandiales y los basales) fueron significativamente menos marcados que en la dieta de referencia.

Se ha sugerido que la exposición crónica a una dieta rica en AGM aumenta la capacidad de las TRL grandes para transportar partículas lipídicas durante el postprandio, reduciendo el número total de partículas TRL generadas⁴³⁰. El FVII se une a la fracción proteica de las TRL, lo que alarga la permanencia en sangre de este factor. Al tener un menor aumento absoluto de partículas TRL grandes, la dieta rica en AGM provocaría una menor activación de FVII. Además, las TRL grandes ricas en AGM o n-3 son más fácilmente aclaradas

⁴³¹ Roche HM, Zampelas A, Knapper JM, et al. Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism. *Am J Clin Nutr* 1998;68:552-60

⁴³² Sanders TA, de Grassi T, Miller GJ, Humphries SE. Dietary oleic and palmitic acids and postprandial factor VII in middle-aged men heterozygous and homozygous for factor VII R353Q polymorphism. *Am J Clin Nutr* 1999;69:220-5

⁴³³ Sanders TA, Oakley FR, Cooper JA, Miller GJ. Influence of a stearic acid-rich structured triacylglycerol on postprandial lipemia, factor VII concentrations, and fibrinolytic activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001;73:715-21

⁴³⁴ Kelly CM, Smith RD, Williams CM. Dietary monounsaturated fatty acids and haemostasis. *Proc Nutr Soc* 2001;60:161-70

⁴³⁵ Williams CM. Beneficial nutrition properties of olive oil: implications for postprandial lipoproteins and factor VII. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001;4 Suppl:51-6

del plasma que las procedentes de AGS, debido a su estructura conformacional, ya que la posición de los AG en los TG difiere en las grasas y aceites de distinto origen e influye en el metabolismo lipídico postprandial⁴³⁶: Las lipasas en el tracto digestivo hidrolizan los ácidos grasos en las posiciones sn-1 y sn-3 de los TG (las utilizadas preferentemente por AGM y n-3)⁴³⁷. Los AGS se localizan principalmente en posición sn-2 de los TG, lo que determina una absorción más eficiente⁴³⁸ y un aclarado plasmático de los Qm más lento, por lo que resulta una lipemia postprandial más pronunciada. Esta combinación de factores (menor número de partículas TRL grandes y menor permanencia en sangre de ellas respecto a AGS) explicaría la menor concentración de FVII tras la dieta y la sobrecarga de AGM que hemos encontrado, así como los menores incrementos en el postprandio respecto al basal de las dos dietas.

Por su parte, tras la sobrecarga rica en nueces constatamos un descenso en los niveles de FVIIc postprandial, resultado ya descrito en un trabajo de Sanders y cols⁴³⁹. Éstos estudiaron el efecto de 5 dietas con diferente relación n-6:n-3, consumida durante 6 meses, sobre los factores de hemostasia. Los 258 hombres y mujeres que participaron en el estudio tenían una edad entre 45 y 70 años y seguían una dieta típica del norte de Europa (rica en AGS). Se observó un

⁴³⁶ Redgrave TG, Kodali DR, Small DM. The effect of triacyl-sn-glycerol structure on the metabolism of chylomicrons and triacylglycerol-rich emulsions in the rat. *J Biol Chem* 1988;263:5118-23

⁴³⁷ Duttaroy AK. Postprandial activation of hemostatic factors: role of dietary fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72:381-91

⁴³⁸ Yli-Jokipii K, Kallio H, Schwab U, et al. Effects of palm oil and transesterified palm oil on chylomicron and VLDL triacylglycerol structures and postprandial lipid response. *J Lipid Res* 2001;42:1618-25

⁴³⁹ Sanders TA, Lewis F, Slaughter S, et al. Effect of varying the ratio of n-6 to n-3 fatty acids by increasing the dietary intake of alpha-linolenic acid, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, or both on fibrinogen and clotting

descenso de la actividad del FVII postprandial tras el consumo de una dieta pobre en grasa y enriquecida con AGP n-3. Este efecto estaría mediado también, probablemente, por la estructura conformacional de los n-3 en los TG vehiculizados por las TRLs⁴³⁷.

Nuestro grupo ha demostrado anteriormente que la adherencia a una dieta rica en AGM (rica en aceite de oliva) reduce las concentraciones plasmáticas de PAI-1 frente a una dieta rica en AGS^{440,441}. En el trabajo de López-Segura *y cols.*, en el que participaron 21 hombres jóvenes sanos, se compararon dos dietas bajas en grasas con dos enriquecidas con ácido oleico, todas con idéntico contenido en colesterol, demostrándose un descenso de los niveles plasmáticos de PAI-1 en ambas dietas con ácido oleico⁴⁴². Por su parte, Pérez-Jiménez *y cols.*⁴⁴³ describieron, en una población de 25 hombres jóvenes sanos, un descenso de los niveles de PAI-1 tras el consumo de dos dietas cardioprotectoras, una baja en grasa y otra Mediterránea, tras el consumo de una dieta rica en ácido palmítico (AGS). El efecto reductor fue mayor en la dieta Mediterránea que en la baja en grasa.

La modulación del PAI-1 es multifactorial, pero uno de sus principales determinantes es la concentración de insulina en sangre. El mecanismo por el cual los niveles elevados de insulina provocan el aumento del PAI-1 se desconoce.

factors VII and XII in persons aged 45-70 y: the OPTILIP study. *Am J Clin Nutr* 2006;84:513-22

⁴⁴⁰ Pérez-Jiménez F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 2005;35:421-4

⁴⁴¹ Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002;163:385-98

⁴⁴² López-Segura F, Velasco F, López-Miranda J, et al. Monounsaturated fatty acid-enriched diet decreases plasma plasminogen activator inhibitor type 1. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 1996;16:82-8

Estudios *in vitro* describen una estimulación de la producción de PAI-1 cuando se incuban células endoteliales arteriales⁴⁴⁴ y hepatocitos⁴⁴⁵ con insulina, producida por un mecanismo de estabilización del mRNA⁴⁴⁶. La menor concentración postprandial de PAI-1 observada tras una comida rica en AGM, frente a AGS observada podría, por tanto, reflejar una mayor sensibilidad a la insulina secretada en el postprandio. Así, en nuestro trabajo la actividad de PAI-1 se correlacionó, tanto en situación basal como postprandial, con la insulinemia y con la resistencia a la insulina (medida mediante el índice HOMA). Esto podría también explicar las diferencias encontradas en los cambios respecto al basal entre ambas dietas. En nuestro estudio, la concentración de PAI-1 fue también mayor en el postprandio tras la comida rica en mantequilla que tras la rica en nueces. Esto está en consonancia con estudios previos en el que la mantequilla provocó aumentos de PAI-1 hasta 8 horas después de la ingesta⁴⁴⁷.

También hemos empleado, para medir la actividad del sistema fibrinolítico en el plasma, los niveles de tPA (responsable de activar la fibrinólisis) y el cociente tPA/PAI-1. Observamos un descenso de tPA durante el postprandio, independientemente del tipo de grasa suministrada o la dieta previa. La sobrecarga rica en mantequilla se asoció con una

⁴⁴³ Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145:351-8

⁴⁴⁴ Schneider DJ, Nordt TK, Sobel BE. Stimulation by proinsulin of expression of plasminogen activator inhibitor type-I in endothelial cells. *Diabetes* 1992;41:890-5

⁴⁴⁵ Alessi MC, Juhan-Vague I, Kooistra T, Declerck PJ, Collen D. Insulin stimulates the synthesis of plasminogen activator inhibitor 1 by the human hepatocellular cell line Hep G2. *Thromb Haemost* 1988;60:491-4

⁴⁴⁶ Fatal PG, Schneider DJ, Sobel BE, Billadello JJ. Post-transcriptional regulation of expression of plasminogen activator inhibitor type 1 mRNA by insulin and insulin-like growth factor 1. *J Biol Chem* 1992;267:12412-12415

mayor reducción de tPA y un empeoramiento del cociente tPA/PAI-1, lo que demuestra la creación de un ambiente más procoagulante, que se ha relacionado con la presencia de ECV⁴⁴⁸. El establecer una relación entre el consumo de distintas grasas y la actividad fibrinolítica de estos marcadores es difícil, ya que presentan variaciones circadianas e intraindividuales y, además, son reactantes de fase aguda, por lo que podrían elevarse como resultado de la inflamación asociada a la arteriosclerosis. Sin embargo, nuestros resultados coinciden con los publicado por varios autores^{449,450,451}.

La concentración plasmática de DD, producto de degradación de la fibrina por la plasmina, se ha utilizado como marcador global de su "turnover" y, por tanto, de la actividad fibrinolítica⁴⁵². Numerosos estudios han evidenciado la correlación positiva entre los niveles plasmáticos del DD y la ECV^{446,453}. La relación entre la grasa de la dieta y este marcador, sin embargo, no está establecida. En nuestro trabajo, no existieron diferencias entre los niveles basales de DD tras las tres dietas analizadas, lo que confirma los

⁴⁴⁷ Kozima Y, Urano Y, Serizawa K, Takada Y, Takada A. Impaired fibrinolytic activity induced by ingestion of butter: effect of increased plasma lipids on the fibrinolytic activity. *Thromb Res* 1993; 70: 191-202

⁴⁴⁸ Folsom AR, Aleksic N, Park E, Salomaa V, Juneja H, Wu KK. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 611-7

⁴⁴⁹ Freese R, Mutanen M. Alpha-linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1997; 66(3): 591-8

⁴⁵⁰ Avellone G, Di Garbo V, Abruzzese G, et al. Cross-over study on effects of Mediterranean diet in two randomly selected population samples. *Nutr Res* 2003; 23: 1329-1339

⁴⁵¹ Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1125-32

⁴⁵² Danesh J, Whincup P, Walker M, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2001; 103: 2323-7

hallazgos de estudios previos^{454,455,456}. En el postprandio encontramos un aumento, respecto a las concentraciones basales de los niveles de DD, 4 horas tras la sobrecarga grasa, independiente del alimento consumido, que rozó la significación estadística, siendo el incremento tras el consumo de mantequilla mayor que tras el de nueces o mantequilla. Este efecto no está descrito en trabajos anteriores, donde los niveles de DD no presentan diferencias en el postprandio respecto al basal ni se ven influidos por el tipo de grasa consumida^{456,457,458}.

En cuanto al análisis de los efectos de la intervención dietética sobre la agregación plaquetaria, en nuestro trabajo los niveles plasmáticos del ecosanoide TxB2 en situación basal fueron iguales tras el consumo de las tres dietas estudiadas, observándose un aumento postprandial respecto a la situación basal, independiente de la sobrecarga grasa consumida. En trabajos previos, se ha descrito un descenso en los niveles de TxB2 en plasma⁴⁵⁹, la membrana plaquetaria^{460,461} o su

⁴⁵³ Lee KW, Lip GY. Effects of lifestyle on hemostasis, fibrinolysis, and platelet reactivity: a systematic review. *Arch Intern Med* 2003;163:2368-92

⁴⁵⁴ Turpeinen AM, Mutanen M. Similar effects of diets high in oleic or linoleic acids on coagulation and fibrinolytic factors in healthy humans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999;9:65-72

⁴⁵⁵ Scarabin PY, Aillaud MF, Luc G, et al. Haemostasis in relation to dietary fat as estimated by erythrocyte fatty acid composition: the prime study. *Thromb Res* 2001;102:285-93

⁴⁵⁶ Almendingen K, Seljeflot I, Sandstad B, Pedersen JI. Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil, and butter on hemostatic variables in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:375-80

⁴⁵⁷ Sanders TA, Oakley FR, Cooper JA, Miller GJ. Influence of a stearic acid-rich structured triacylglycerol on postprandial lipemia, factor VII concentrations, and fibrinolytic activity in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2001;73:715-21

⁴⁵⁸ Oakley FR, Sanders TA, Miller GJ. Postprandial effects of an oleic acid-rich oil compared with butter on clotting factor VII and fibrinolysis in healthy men. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1202-7

⁴⁵⁹ Navarro MD, Hortelano P, Periago JL, Pita ML. Effect of dietary olive and sunflower oils on the lipid composition of the aorta and platelets and on blood eicosanoids in rats. *Arterioscler Thromb* 1992;12:830-5

⁴⁶⁰ Sirtori CR, Tremoli E, Gatti E, et al. Controlled evaluation of fat intake in the Mediterranean diet: comparative activities of olive oil and corn oil on

metabolito urinario^{462,463} tras el consumo de AGM (aceite de oliva^{459,460,462} o de girasol⁴⁶³) o AGP (aceite de pescado⁴⁶¹), efecto que no observamos en el nuestro.

Aunque en el presente trabajo hagamos referencia a cada una de las distintas dietas y comidas utilizadas mediante el nombre del tipo de AG más abundante en su composición, los alimentos consumidos poseen, evidentemente, otros nutrientes al margen de las grasas. Parte de los resultados que hemos obtenido pueden depender de componentes minoritarios de los distintos alimentos que hemos empleado, y no exclusivamente de su composición grasa. En este sentido, las nueces son fuente de arginina, el aminoácido precursor original del NO. Un aumento de éste último podría contribuir a crear un ambiente menos proinflamatorio/procoagulante, ya que el NO produce efectos demostrados sobre la reactividad vascular y la formación del trombo (inhibe la agregación plaquetaria, la adherencia de monocitos, la quimiotaxis de leucocitos y la proliferación de células musculares lisas). Así, en el presente trabajo, hemos encontrado que la sobrecarga con nueces tras una dieta rica en n3 no altera de forma significativa los niveles de NO en el postprandio, mientras que las de aceite de oliva y mantequilla producían un descenso de sus niveles.

plasma lipids and platelets in high-risk patients. *Am J Clin Nutr* 1986;44:635-42

⁴⁶¹ Vognild E, Elvevoll EO, Brox J, et al. Effects of dietary marine oils and olive oil on fatty acid composition, platelet membrane fluidity, platelet responses, and serum lipids in healthy humans. *Lipids* 1998;33:427-36

⁴⁶² Lahoz C, Alonso R, Ordoñas JM, Lopez-Farre A, de Oya M, Mata P. Effects of dietary fat saturation on eicosanoid production, platelet aggregation and blood pressure. *Eur J Clin Invest* 1997;27:780-7

⁴⁶³ Sanchez-Muniz FJ, Oubina P, Rodenas S, Benedi J, Cuesta C. Platelet aggregation, thromboxane production and thrombogenic ratio in postmenopausal women consuming high oleic acid-sunflower oil or palmolein. *Eur J Nutr* 2003;42:299-306

Además, las nueces poseen otros componentes con propiedades cardiosaludables, como la vitamina E (su acción antioxidante podría reducir las LDLox), el ácido fólico (disminuye los niveles de homocisteína, factor de riesgo cardiovascular reconocido), fibra y polifenoles⁴⁶⁴.

El aceite de oliva virgen, por su parte, contiene fenoles en su porción no saponificable, que han demostrado poseer propiedades antioxidantes⁴⁶⁵, antiinflamatorias⁴⁶⁶ y anti-trombótica en cultivos celulares y estudios in vivo. Además, en sendos trabajos llevados a cabo por nuestro grupo se han observado, efectos vasodilatadores⁴⁶⁷ y anticoagulantes⁴⁶⁸ en situación postprandial. Así, en un grupo de 21 voluntarios con hipercolesterolemia, Ruano y cols.⁴⁶⁷ compararon el consumo de un desayuno con dos tipos de aceite de oliva, con bajo y alto contenido en fenoles, respectivamente. Tras la ingesta de este último, se observó una menor disfunción endotelial, medida como hiperemia reactiva a isquemia, HRI), relacionada con la disminución del estrés oxidativo, ya que la HRI se correlacionaba de forma positiva con los niveles de NO y de forma negativa con los de LPO. En el presente trabajo, sin embargo, el consumo de aceite de oliva tras una dieta rica en aceite de oliva produjo en situación postprandial una disminución de los niveles de NO similar al de la sobrecarga

⁴⁶⁴ Feldman EB. The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *J Nutr* 2002;132:1062S-1101S

⁴⁶⁵ Moreno JA, Lopez-Miranda J, Gomez P, Benkhalti F, El Boustani ES, Perez-Jimenez F. Effect of phenolic compounds of virgin olive oil on LDL oxidation resistance. *Med Clin (Barc)* 2003;120:128-31

⁴⁶⁶ Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, et al. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:622-9

⁴⁶⁷ Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1864-8

de mantequilla y mayor que tras la de nueces, y un aumento de los LPO similar al de las otras dos sobrecargas.

Con idéntica metodología, estos autores describen, tras el desayuno con aceite de alto contenido en fenoles, un menor estado protrombótico (menor incremento de FVIIa y mayor disminución de la concentración de PAI-1) en situación postprandial, que tras el desayuno con aceite con bajo contenido fenólico⁴⁶⁸. Los resultados relativos a los parámetros de hemostasia analizados coinciden con los hallados en el presente trabajo, con una disminución de los niveles de FVIIc y PAI-1 en el estado postprandial tras la sobrecarga de aceite de oliva tras una dieta rica en AGM mayor que los producidos por una sobrecarga de nueces tras una dieta rica en AGP.

Asimismo, varios estudios sugieren que los polifenoles juegan un importante papel en la modulación de la producción de eicosanoides (como el TxB2 analizado en nuestro trabajo) y, por tanto, en la activación plaquetaria⁴⁶⁹.

El conjunto de los compuestos biológicamente activos del aceite de oliva virgen, por tanto, puede favorecer una menor activación de la inflamación y la coagulación en el postprandio, hecho que se relaciona con la menor activación postprandial del FNκB, un importante regulador celular que inicia la formación de péptidos señal procoagulantes y proinflamatorios^{470,471}.

⁴⁶⁸ Ruano J, Lopez-Miranda J, de la Torre R, et al. Intake of phenol-rich virgin olive oil improves the postprandial prothrombotic profile in hypercholesterolemic patients. *Am J Clin Nutr* 2007;86:341-6

⁴⁶⁹ Togna GI, Togna AR, Franconi M, Marra C, Guiso M. Olive oil isochromans inhibit human platelet reactivity. *J Nutr* 2003;133:2532-6

⁴⁷⁰ Bellido C, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, et al. Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor kappaB in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1487-91

⁴⁷¹ Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio L, et al. The chronic intake of a Mediterranean diet enriched in virgin olive oil, decreases nuclear

En cuanto a la población estudiada, una ventaja del presente trabajo es la gran homogeneidad del grupo participante, lo que nos permite excluir los factores de confusión que puedan ser atribuibles a heterogeneidad de la muestra, tales como edad, género, índice de masa corporal u otros. Además, es un excelente punto de partida para estudios con mayor población, y evaluando distintos grupos de edad o con distintas patologías o factores de riesgo cardiovascular.

Otro aspecto a reseñar que podría desprenderse de nuestros resultados es la importancia de estudiar el postprandio como espejo de los efectos que el tipo de alimentación tiene sobre la salud, ya que éste constituye el estado fisiológico habitual en el que se encuentra el ser humano la mayor parte del día, y durante él se producen claros efectos diferenciales con la situación de ayunas, en la que, actualmente, la mayoría de las personas del mundo occidental no se encuentran más de 4-6 horas al día.

En definitiva, la aportación que realiza nuestro trabajo es que la realización de una sobrecarga grasa provocó el aumento de marcadores protrombóticos durante el postprandio, relacionado con el tipo de grasa suministrada o la dieta previa. La sobrecarga rica en aceite de oliva disminuyó la tendencia protrombótica postprandial, reduciendo el FVIIc frente a las otras dos (34% de descenso respecto a los valores en ayunas), y redujo asimismo el PAI-1. La sobrecarga rica en mantequilla se asoció con un aumento adicional en marcadores de trombofilia y mayor reducción de factores anticoagulantes, con la creación de un ambiente más procoagulante, que puede predisponer a eventos trombóticos agudos. La sobrecarga rica en nueces, por su parte, produjo

transcription factor kappaB activation in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Atherosclerosis* 2007; 194(2): 141-6

efectos favorables sobre la hemostasia, con una reducción en el postprandio de su concentración de FVIIc (menor que la experimentada tras la comida rica en aceite de oliva) y una menor concentración postprandial de PAI-1 que la rica en mantequilla.

Estos datos sugieren que el aceite de oliva es un alimento funcional con alto potencial anticoagulante^{472,473,474,475}. Asimismo, las nueces también se presentan como un alimento cardiosaludable con un efecto beneficioso sobre la hemostasia^{476,477}.

⁴⁷² Perez-Jimenez F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 2005;35:421-4

⁴⁷³ Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002;163:385-98

⁴⁷⁴ Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 1999;145:351-8

⁴⁷⁵ Perez-Jimenez F, Lista JD, Perez-Martinez P, et al. Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects. *Public Health Nutr* 2006;9:1083-8

⁴⁷⁶ Feldman EB. The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *J Nutr* 2002;132:1062S-1101S

⁴⁷⁷ Morgan JM, Horton K, Reese D, Carey C, Walker K, Capuzzi DM. Effects of walnut consumption as part of a low-fat, low-cholesterol diet on serum cardiovascular risk factors. *Int J Vitam Nutr Res* 2002;72:341-7

CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN PRINCIPAL:

La ingesta aguda de una comida grasa induce un estado protrombótico (elevación de tromboxanos, descenso de tPA, aumento de Dímero D) durante el postprandio. No obstante, este fenómeno se ve claramente influenciado por el tipo de grasa presente en una comida.

CONCLUSIONES SECUNDARIAS:

1º) El consumo de mantequilla favorece la creación de un ambiente postprandial más procoagulante, con un aumento adicional en marcadores de trombofilia (Dimero D, PAI-1), mayor reducción de factores anticoagulantes (tPA) y un empeoramiento del cociente tPA/PAI-1.

2º) El consumo de aceite de oliva disminuye la tendencia protrombótica postprandial, frente al de mantequilla o nueces, reduciendo el Factor VIIc y el PAI-1, manteniendo inalterado el cociente tPA/PAI-1.

3º) El consumo de nueces produce una reducción de la carga trombótica postprandial, aunque con menor intensidad que el de aceite de oliva, al disminuir la concentración de FVIIc y provoca una menor concentración de PAI-1 que el consumo de mantequilla.

ABREVIATURAS

- ABC= Área bajo la curva
- ABC-A1= Transportador de unión a ATP A1
- AG= Ácidos grasos
- AGM= Ácidos grasos monoinsaturados
- AGP= Ácidos grasos poliinsaturados
- AGS= Ácidos grasos saturados
- ALA= Ácido alfa-linolénico
- ApoA1= Apolipoproteína A1
- ApoB= Apolipoproteína B
- ApoE= Apolipoproteína E
- CE= Éster de colesterol
- CT= Colesterol total
- ColQm= Colesterol en quilomicrones
- ColRQm= Colesterol en remanentes de quilomicrones
- Cols. = Colaboradores
- DE= Desviación estándar
- DD= Dímero D
- DHA= Ácido docosahexaenoico
- DNA= Ácido desoxirribonucleico
- EC= Enfermedad coronaria
- ECV= Enfermedad Cardiovascular
- ELAM= Moléculas de adhesión leucocito-endotelial
- EPA= Ácido eicosapentaenoico
- EVC= Enfermedad Vascul ar Cerebral
- F1+2= Fragmentos de protrombina 1 y 2
- FIX= Factor IX
- FNκB= Factor de transcripción nuclear kappa beta
- FRCV= Factor de riesgo cardiovascular
- FT= Factor tisular
- FVII= Factor VII
- FVIIa= Factor VII activado
- FVIIag= Factor VII antigénico

- FVIIam= Factor VII *"Coupled amidolytic assay"*
- FVIIc= Factor VII coagulante
- FVIII= Factor VIII
- FvW= Factor de von Willebrand
- FX= Factor X
- GM-CSF= Factor estimulador de colonias de monocitos y granulocitos
- GMPc= Guanosín monofosfato cíclico
- HC= Hidratos de carbono
- HDL= Lipoproteína de alta densidad
- HDLc= Colesterol en Lipoproteínas de alta densidad
- HOMA= Homeostatic Model Assessment
- HRI= Hiperemia reactiva a la isquemia
- IAM= Infarto agudo de miocardio
- ICAM= Moéculas de adhesión intercelular
- IL= Interleucina
- IL-1 β = Interleucina 1 β
- IMC= Índice de masa corporal
- LDL= Lipoproteína de baja densidad
- LDLc= Colesterol en lipoproteína de baja densidad
- LDLox= LDL oxidada
- Lp(a)= Lipoproteína a
- LPL = Lipoproteína lipasa
- LPO= Lipoperóxidos
- MCP= Proteína quimiotáctica para monocitos
- MCSF= Factor de estimulación de monocitos
- mRNA= RNA mensajero
- NO= Óxido nítrico
- NPHS= Northwick Park Heart Study
- PAI-1= Inhibidor del plasminógeno activado tipo 1
- PAI-1a= Actividad del Inhibidor del plasminógeno activado tipo 1

- PAI-1ag= Antígeno del Inhibidor del plasminógeno activado tipo 1
- PG-E₂= Prostaglandina E₂
- PG-I₂= Prostaciclina
- PPAR= Receptores activadores de la producción de peroxisomas
- Qm= Quilomicrones
- RC= Randomizado cruzado
- RNA= Ácido ribonucleico
- RQm=Remanente de quilomicrón
- RR= Riesgo relativo
- TCM= Triglicéridos de cadena media
- TFPI= Inhibidor de la vía del factor tisular
- TG= Triglicéridos
- TGQm= Triglicéridos en quilomicrones
- TGRQm= Triglicéridos en remanentes de quilomicrones
- TNF= Factor de necrosis tisular
- tPA= Activador tisular del plasminógeno
- tPAa= Actividad del activador del plasminógeno tisular
- tPAag= Antígeno del activador del plasminógeno tisular
- TRL= Lipoproteínas ricas en triglicéridos
- TxA₂= Tromboxano A2
- TxB₂= Tromboxano B2
- uPA= Activador del plasminógeno tipo urokinasa
- VCAM= Molécula de adhesión vascular
- VLDL= Lipoproteínas de muy baja densidad

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS EN INTRODUCCIÓN

Tabla 1: <i>Clasificación de las lesiones arterioscleróticas propuesta por Stary y cols.</i>	22
Tabla 2: <i>Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad coronaria.</i>	35
Tabla 3: <i>Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad cerebro-vascular.</i>	36
Tabla 4: <i>Principales estudios prospectivos con niveles de FVII y enfermedad aterotrombótica periférica.</i>	37
Tabla 5: <i>Principales estudios clínicos sobre Fibrinólisis y ECV.</i>	44
Tabla 6: <i>Principales estudios epidemiológicos sobre Fibrinólisis y ECV.</i>	45
Tabla 7: <i>Estudios que comparan en adultos sanos la concentración plasmática de FVII basal tras la dieta rica en grasa frente a la pobre en grasa.</i>	50
Tabla 8: <i>Estudios con diseño randomizado cruzado que comparan en personas sanas la concentración plasmática de FVII basal tras dietas con diferente composición en ácidos grasos.</i>	53
Tabla 9: <i>Estudios randomizados cruzados que comparan concentraciones de FVII basales tras dietas suplementadas con diferentes ácidos grasos.</i>	54
Tabla 10: <i>Estudios randomizados cruzados sobre la relación in vivo de la grasa de la dieta con la fibrinólisis en situación basal.</i>	58
Tabla 11: <i>Estudios randomizados no cruzados sobre la relación in vivo de la grasa de la dieta con la fibrinólisis en situación basal.</i>	59
Tabla 12: <i>Estudios de actividad de FVII postprandial.</i>	83
Tabla 13: <i>Estudios sobre lipemia postprandial y fibrinólisis.</i>	92

TABLAS EN RESULTADOS

Tabla 14: <i>Características basales de los participantes.</i>	113
Tabla 15: <i>Análisis de la composición en ácidos grasos tras las dietas.</i>	114
Tabla 16: <i>Análisis de la composición en ácidos grasos en el estado postprandial.</i>	115
Tabla 17: <i>Actividad de FVIIc basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	117
Tabla 18: <i>Actividad de PAI-1 basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	119
Tabla 19: <i>Concentración de tPA basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	121
Tabla 20: <i>Concentración de tPA/PAI-1 basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	123
Tabla 21: <i>Concentración de Dímero D basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	125
Tabla 22: <i>Concentración de TxB2 basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	127
Tabla 23: <i>NO basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	128
Tabla 24: <i>Concentración de LPO basal y tras 4 horas de un desayuno.</i>	130

Tabla 25: Valores de las áreas relativizadas bajo la curva de los diferentes parámetros de lipemia postprandial.....	132
Tabla 26: Análisis de correlación en situación basal de las diferentes fracciones lipídicas y los parámetros de hemostasia.....	133
Tabla 27: Análisis de correlación en situación basal de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO e insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia.....	133
Tabla 28: Análisis de correlación en situación postprandial de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO e insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia.....	134
Tabla 29: Análisis de correlación de las variaciones con respecto a la situación basal de las diferentes fracciones lipídicas y de los parámetros de hemostasia.....	134
Tabla 30: Análisis de correlación de las variaciones con respecto a la situación basal de las concentraciones plasmáticas de Lp(a), NO, LPO y la insulina, el índice HOMA y los parámetros de hemostasia.....	135
Tabla 31: Análisis de regresión lineal múltiple de las principales variables estudiadas.....	136

PÁGINA

FIGURAS EN INTRODUCCIÓN

Figura 1: Disfunción endotelial.....	16
Figura 2: Cascada de la coagulación.....	29
Figura 3: Regulación de la trombosis por el endotelio.....	30
Figura 4: Fibrinólisis.....	41
Figura 5: Metabolismo de las lipoproteínas.....	67

FIGURAS EN DISEÑO Y METODOLOGÍA

Figura 6: Administración randomizada de las dietas.....	103
--	------------

FIGURAS EN RESULTADOS

Figura 7: Actividad de FVIIc basal y tras 4 horas de un desayuno.....	117
Figura 8: Diferencia absoluta respecto al basal de FVIIc tras un desayuno.....	118
Figura 9: Actividad de PAI-1 basal y tras 4 horas de un desayuno.....	119
Figura 10: Diferencia absoluta respecto al basal de PAI-1 tras un desayuno.....	120
Figura 11: Concentración de tPA basal y tras 4 horas de un desayuno.....	121
Figura 12: Diferencia absoluta respecto al basal de tPA tras un desayuno.....	122
Figura 13: Concentración de tPA/PAI-1 basal y tras 4 horas de un desayuno.....	123
Figura 14: Concentración de Dímero D basal y tras 4 horas de un desayuno.....	124

Figura 15: <i>Diferencia absoluta respecto al basal de Dímero D tras un desayuno</i>	122
Figura 16: <i>Concentración de TxB2 basal y tras 4 horas de un desayuno</i>	126
Figura 17: <i>Diferencia absoluta respecto al basal de TxB2 tras un desayuno</i>	127
Figura 18: <i>NO basal y tras 4 horas de un desayuno</i>	128
Figura 19: <i>Diferencia absoluta respecto al basal de NO tras un desayuno</i>	129
Figura 20: <i>Concentración de LPO basal y tras 4 horas de un desayuno</i>	129
Figura 21: <i>Diferencia absoluta respecto al basal de LPO tras un desayuno</i>	130

