



UNIVERSIDAD DE LEÓN

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

TESIS DOCTORAL

Efecto del té de peña, *Sideritis hyssopifolia*,
en el desarrollo y evolución de la aterosclerosis en conejos

ESTHER COTO ALCARAZ

2014



UNIVERSIDAD DE LEÓN

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

Efecto del té de peña, *Sideritis hyssopifolia*,
en el desarrollo y evolución de la aterosclerosis en conejos

Tesis doctoral dirigida por

PROF. DRA. MATILDE SIERRA VEGA

PROF. DRA. MARÍA JOSÉ DÍEZ LIÉBANA

y desarrollada por

ESTHER COTO ALCARAZ

a fin de optar al grado de

DOCTORA POR LA UNIVERSIDAD DE LEÓN

Tesis Doctoral defendida en la ciudad de León

en Diciembre de 2014

A mi marido y a mis hijos

«Cuando tienes un sueño tienes que agarrarlo y nunca dejarlo ir»

Carol Burnett

Agradecimientos

Quiero mostrar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que de una manera u otra han contribuido a que se llevara a cabo la realización de esta tesis. Entre ellos quiero nombrar especialmente...

A mis directoras de tesis, las Dras. Matilde Sierra Vega y M^a José Díez Liébana, por confiar en mi y brindarme su apoyo poniendo todo de su parte, además de animarme siempre. También por abrirme las puertas hacia mi formación y mi desarrollo profesional.

A todos los miembros del área de Farmacología, por su permanente disponibilidad e inestimable ayuda en cualquier situación, además de su siempre buena acogida.

Al Dr. Elías Rodríguez Olivera, por sus sabios y acertados consejos y por todo lo que de él aprendí, tanto dentro como fuera de la Universidad.

A mis compañeros del área de Bioquímica, por haberme acompañado durante parte del período de duración de esta Tesis y compartir buenos momentos juntos.

A mi marido Manuel, por estar a mi lado y a mis hijos Miguel y Nicolás, por haberme proporcionado la fuerza necesaria para seguir adelante, sin ellos esto no hubiera sido posible. También por entender mis ausencias en los momentos de trabajo.

Por supuesto a mis padres, por haberme inculcado su gran capacidad de trabajo y esfuerzo personal y a mis hermanos, por alabar mis logros y estar a mi lado en mis tropiezos.

A mis amigos, por haber formado parte de mi «descanso» durante todo este proyecto.

También agradecer a la Junta de Castilla y León la concesión del proyecto que ha permitido la realización de esta Tesis Doctoral.

Glosario de términos

ABC: Transportador ATP Binding Cassette

ACAT: Acil-CoA-colesterol-aciltransferasa

ACV: Accidente cerebro-vascular

AEAC: Capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados

AUC: Área bajo la curva

apo-A1: Apolipoproteína-A1

apo-A2: Apolipoproteína-A2

apo-B: Apolipoproteína-B

apo-C: Apolipoproteína-C

apo-E: Apolipoproteína-E

APO E-KO: Deficiencia en el receptor para las apo-E

ARIC: *Atherosclerosis risk in communities study*

ADP: Adenosín difosfato

ATP: Adenosín trifosfato

BNP: Péptido natriurético cerebral

CAT: Catalasa

CC: Quimiocinas tipo γ

CETP: Proteína transportadora de ésteres de colesterol

c-HDL: Lipoproteína de alta densidad (high density lipoprotein)

CI: Cardiopatía isquémica

CK: Creatin-kinasa

c-LDL: Lipoproteína de baja densidad (low density lipoprotein)

C_{max}: Concentración máxima

COX-2: Ciclooxygenasa-2

CRP: Proteína C reactiva

c-VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad (very low density lipoprotein)

CXC: Quimiocinas tipo α

CYP7A1: Enzima colesterol-7- α -hidroxilasa

DM: Diabetes mellitus

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

EAT: Enfermedad aterotrombótica

EAC: Enfermedad arterial coronaria

ECV: Enfermedad cardiovascular

EDIP: Proteína inductora de la disfunción endotelial a la región 3'-UTR_m del ARN de la NOS_e

ENRICA: Estudio de nutrición y riesgo cardiovascular

ERO: Especies reactivas del oxígeno

FDA: Agencia de Alimentos y Medicamentos

FG: Fibrinógeno

F_r: Biodisponibilidad relativa

FRCV: Factor de riesgo cardiovascular

FVIIIIRA: Factor VIII relacionado con los antígenos

GPX: Glutation peroxidasa

GRD: Glutation reductasa

GSH-PX: Glutation peroxidasa

GTP: Guanosín-trifosfato

GTPasas: Guanosina trifosfatasa

βHS: β- hidroxiaácido

HBA_{1C}: Hemoglobina glucosilada

HEPG2: Línea celular de carcinoma hepático

HMG-CoA: Hidroximetilglutaril-coenzima A

HMG-CoA-reductasa: Hidroximetilglutaril- coenzima A-reductasa

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia (high-performance liquid chromatography)

HPLC-UV/DAD: Cromatografía líquida de alta eficacia con detección de ultravioleta y diodoarray

HPS-2: *Heart Protection Study 2*

hsCRP: Proteína C reactiva ultrasensible

HTA: Hipertensión arterial

IA: Índice aterogénico

IAM: Infarto agudo de miocardio

IC: Intervalo de confianza

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular-1

IGG: Inmunoglobulina G

IL-1: Interleucina-1

IL-6: Interleucina-6

IL-8: Interleucina-8

IL-10: Interleucina-10

IAM: Infarto agudo de miocardio

IMC: Índice de masa corporal

K_e: Constante de eliminación

LCAT: Lecitíncolesterol-acil-transferasa

LDLR: Gen que codifica para el receptor c-LDL

LDLR-KO: Deficiencia en el receptor para las c-LDL

LP(A): Lipoproteína A

LPL: Lipoproteinlipasa

MDA: Malonildialdehído

MIP-3: Proteína inflamatoria de macrófagos-3

MM-LDL: c-LDL mínimamente oxidadas

MCP-1: Proteína quimioatrayente de monocitos-1

NF-KB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

MIP-1: Proteína inflamatoria de macrófagos-1

MMPs: Metaloproteinasas de la matriz extracelular

MRFIT: *Multiple Risk Factor Intervention Trial*

MRT: Tiempo de respuesta media

NOS: Óxido nítrico sintasa

NTpro-BNP: Péptido natriurético pro-BNP

NSTEMI: Infarto agudo del miocardio sin elevación del segmento ST

OMS: Organización mundial de la salud

PAB: Balance prooxidante-antioxidante

PAI-1 : inhibidor del activador del plasminógeno-1

PON-1: Enzima paraoxonasa-1

PROCAM: *Prospective cardiovascular Munster Study*

RAS: Estenosis arterial renal

RCV: Riesgo cardiovascular

REGICOR: Registro gerundense del corazón

ROS: Especies reactivas del oxígeno

SAA: Amiloide sérico A

SCA: Síndrome coronario agudo

SCORE: *Systematic Coronary Risk Evaluation*

SNP: Polimorfismos de nucleótidos

SOD: Superóxido dismutasa

SREBP: Elementos de respuesta a esteroides

T_{1/2} : Semivida de eliminación

T₄: Tiroxina

t_{max}: Tiempo empleado en alcanzar la concentración máxima

TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TF: Factor tisular

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

TG: Triglicéridos

TRC: Transporte reverso del colesterol

TSM: Tiempo desde la aparición de la menopausia

TTH: Tirotropina

V_d: Volumen de distribución

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

Índice general

Agradecimientos	VII
Glosario	IX
Índice general	XV
Índice de figuras	XXI
Índice de tablas	XXV
1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	7
2.1. Mecanismos de acción hipocolesterolemiantes de las plantas	7
2.1.1. Acción antioxidante	7
2.1.2. Inhibición de la síntesis de colesterol	15
2.1.3. Inhibición de la absorción de colesterol	15
2.1.4. Aumento de la excreción y el catabolismo del colesterol	16
2.1.5. Regulación genética	17
2.2. Características botánicas y acciones farmacológicas de <i>Sideritis hyssopifolia</i> , L. subsp. <i>hyssopifolia</i>	18
2.2.1. Taxonomía	20
2.2.2. Descripción botánica	22

2.2.3.	Hábitat y ecología	23
2.2.4.	Composición química	26
2.2.5.	Actividad farmacológica	29
2.2.6.	Interacciones planta—fármacos	34
2.3.	Otras plantas de la familia <i>Lamiaceae</i> con acción hipocolesterolemiantes	34
2.3.1.	Ajuga Iva, (L). Schrb.	34
2.3.2.	Ballota Limbata, Benth.	34
2.3.3.	Ballota undulata, (Sieber & Fresen) Benth.	34
2.3.4.	Lamium album, L.	35
2.3.5.	Marrubium alysson, L.	35
2.3.6.	Melissa officinalis, L.	35
2.3.7.	Melittis melissophyllum, L.	36
2.3.8.	Ocimum basilicum, L.	36
2.3.9.	Ocimum sanctum, L.	36
2.3.10.	Salvia Hispanica, L. (Chia)	36
2.3.11.	Salvia officinalis, L.	37
2.3.12.	Teucrium arduini, L.	37
2.3.13.	Thymbra spicata L., var. spicata Ph. Davis	37
2.3.14.	Ballota nigra, L., Galeopsis tetrahit L., Lamium maculatum, L., Leonurus cardiaca, L. y Marrubium vulgare, L.	37
2.3.15.	Ballota rotundifolia, L. y Teucrium chamaedrys, L. (C. Koch)	39
2.3.16.	Coleus blumei, L., Mentha arvensis, L., Ocimum basilicum, L. y Orthosifon stamineus, Benth.	39
2.4.	Aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares	39
2.4.1.	Historia	39
2.4.2.	Factores de riesgo cardiovascular (FRCV)	44
2.4.3.	Fisiopatología de la aterosclerosis	70
2.4.4.	Manifestaciones clínicas	73
2.4.5.	Tratamiento	76
2.5.	Estatinas	80
2.5.1.	Propiedades físico-químicas	85

2.5.2. Mecanismo de acción y propiedades farmacológicas	86
2.5.3. Farmacocinética	93
2.5.4. Reacciones adversas	98
2.5.5. Interacciones y contraindicaciones	101
2.5.6. Influencia genética sobre la acción farmacológica de la simvastatina . .	109
3. Material y métodos	115
3.1. Obtención de las muestras	115
3.2. Determinación de parámetros bioquímicos	121
3.2.1. CT	121
3.2.2. c-HDL	122
3.2.3. c-LDL	125
3.2.4. TG	128
3.2.5. Apo-B	130
3.2.6. c-VLDL	132
3.2.7. IA	132
3.3. Equipos, material y reactivos empleados	133
3.4. Análisis estadístico	135
4. Resultados y discusión	137
4.1. Peso de los animales	137
4.2. Análisis de CT en suero	142
4.2.1. Grupo control	142
4.2.2. Grupo colesterol	149
4.2.3. Grupo Sideritis	149
4.2.4. Grupo simvastatina	149
4.2.5. Análisis estadístico	150
4.3. Análisis de c-HDL en suero	150
4.3.1. Grupo control	153
4.3.2. Grupo colesterol	153
4.3.3. Grupo Sideritis	153
4.3.4. Grupo simvastatina	153

4.3.5.	Análisis estadístico	158
4.4.	Análisis de c-LDL en suero	158
4.4.1.	Grupo control	161
4.4.2.	Grupo colesterol	161
4.4.3.	Grupo Sideritis	161
4.4.4.	Grupo simvastatina	166
4.4.5.	Análisis estadístico	166
4.5.	Análisis de TG en suero	166
4.5.1.	Grupo control	169
4.5.2.	Grupo colesterol	169
4.5.3.	Grupo Sideritis	174
4.5.4.	Grupo simvastatina	174
4.5.5.	Análisis estadístico	174
4.6.	Análisis de apo-B en suero	175
4.6.1.	Grupo control	178
4.6.2.	Grupo colesterol	178
4.6.3.	Grupo Sideritis	178
4.6.4.	Grupo simvastatina	183
4.6.5.	Análisis estadístico	183
4.7.	Cálculo de las concentraciones de c-VLDL en suero	183
4.7.1.	Grupo control	186
4.7.2.	Grupo colesterol	186
4.7.3.	Grupo Sideritis	186
4.7.4.	Grupo simvastatina	186
4.7.5.	Análisis estadístico	191
4.8.	Cálculo del IA	191
4.8.1.	Grupo control	194
4.8.2.	Grupo colesterol	194
4.8.3.	Grupo Sideritis	194
4.8.4.	Grupo simvastatina	194
4.8.5.	Análisis estadístico	199

4.9. Discusión de los resultados	199
5. Conclusiones	209
Referencias bibliográficas	211

Índice de figuras

2.1. Distintas estructuras químicas de fenoles y polifenoles	11
2.2. Estructura molecular de la quercitina	12
2.3. División botánica del género <i>Sideritis</i>	22
2.4. Imagen de la planta <i>Sideritis hyssopifolia</i> , L., «hisopillo» o «té de roca» . . .	24
2.5. Detalle de las inflorescencias de <i>Sideritis hyssopifolia</i> , L.	25
2.6. Detalle de la flor de <i>Sideritis hyssopifolia</i> , L. subsp. <i>hyssopifolia</i>	26
2.7. Estructura química de algunos flavona—glicósidos de <i>Sideritis hyssopifolia</i> , L. subsp. <i>hyssopifolia</i>	30
2.8. Esquema de los pasos iniciales del proceso de formación de la placa de ateroma	73
2.9. Principales efectos ateroprotectores del c-HDL	76
2.10. Estrategias para el óptimo tratamiento de la aterosclerosis	80
2.11. Vía de síntesis del colesterol e intermediarios isoprenoides	81
2.12. Estructura química de las estatinas existentes en el mercado	82
3.1. Jaulas en las que se encontraban instalados los conejos	116
3.2. Piensos administrados a los conejos	117
3.3. Rotulación de los tubos eppendorf® para almacenar las muestras de suero y plasma de los conejos	118
3.4. Contenido y rotulación de los botes de almacenamiento de las muestras de cada animal	119

3.5. Rotulación de las cajas que contenían los botes donde se almacenaban las muestras de suero y plasma	120
3.6. Recta de calibrado obtenida con los patrones de CT	123
3.7. Recta de calibrado obtenida con los patrones de c-HDL	125
3.8. Recta de calibrado obtenida con los patrones de c-LDL	127
3.9. Recta de calibrado obtenida con los patrones de TG	130
3.10. Recta de calibrado obtenida con los patrones de apo-B	132
4.1. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo control. Se incluye detalle de las gráficas.	145
4.2. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo colesterol.	146
4.3. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.	147
4.4. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.	148
4.5. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo control.	154
4.6. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo colesterol.	155
4.7. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.	156
4.8. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.	157
4.9. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo control.	162
4.10. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo colesterol.	163
4.11. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.	164

4.12. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.	165
4.13. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo control.	170
4.14. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo colesterol.	171
4.15. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.	172
4.16. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.	173
4.17. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo control.	179
4.18. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo colesterol.	180
4.19. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.	181
4.20. Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.	182
4.21. Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo control.	187
4.22. Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo colesterol.	188
4.23. Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo Sideritis.	189
4.24. Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo Simvastatina.	190
4.25. Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo control.	195
4.26. Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo colesterol.	196
4.27. Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo Sideritis.	197
4.28. Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo simvastatina.	198

Índice de tablas

2.1. Principales factores de riesgo cardiovascular	46
2.2. Escala de Framingham aplicada a la población española para hombres con diabetes	48
2.3. Escala de Framingham aplicada a la población española para mujeres con diabetes	49
2.4. Escala de Framingham aplicada a la población española para hombres sin diabetes	50
2.5. Escala de Framingham aplicada a la población española para mujeres sin diabetes	51
2.6. Principales estudios epidemiológicos que muestran las concentraciones bajas de c-HDL como factor de riesgo cardiovascular	55
2.7. Principales intervenciones terapéuticas no farmacológicas para incrementar los niveles de c-HDL	78
2.8. Principales tratamientos farmacológicos para disminuir los niveles de c-HDL .	79
2.9. Dosis diaria y porcentaje de disminución de c-LDL de las estatinas	82
2.10. Algunos estudios realizados que evalúan el efecto de las estatinas sobre la enfermedad vascular cerebral	84
2.11. Valores obtenidos de AUC, C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, MRT, K_e y F_r para simvastatina pura, comprimidos y nanopartículas de simvastatina	97
3.1. Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de CT	122
3.2. Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para CT	122

3.3. Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de c-HDL	124
3.4. Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para c-HDL	124
3.5. Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de c-LDL	126
3.6. Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para c-LDL	127
3.7. Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de TG	129
3.8. Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para TG	129
3.9. Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de apo-B	131
3.10. Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para apo-B	131
4.1. Pesos de los conejos del grupo control obtenidos durante todo el estudio . . .	138
4.2. Pesos de los conejos del grupo colesterol obtenidos durante todo el período experimental	138
4.3. Pesos de los conejos del grupo Sideritis obtenidos durante todo el período experimental	139
4.4. Pesos de los conejos del grupo simvastatina obtenidos durante todo el período experimental	139
4.5. Pesos de los conejos del grupo control obtenidos al comienzo y al final del período experimental	140
4.6. Pesos de los conejos del grupo colesterol obtenidos al comienzo y al final del período experimental	140
4.7. Pesos obtenidos de los conejos del grupo Sideritis al comienzo y al final del período experimental	141

4.8. Pesos obtenidos de los conejos del grupo Simvastatina al comienzo y al final del período experimental	141
4.9. Valores de concentración de CT en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	143
4.10. Valores de concentración de CT en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	143
4.11. Valores de concentración de CT en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	144
4.12. Valores de concentración de CT en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	144
4.13. Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental	151
4.14. Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	151
4.15. Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	152
4.16. Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	152
4.17. Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental	159
4.18. Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	159
4.19. Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental	160
4.20. Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	160
4.21. Valores de concentración de TG en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental	167
4.22. Valores de concentración de TG en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental	167

4.23. Valores de concentración de TG en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	168
4.24. Resultados experimentales obtenidos de los valores de concentración de TG en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.	168
4.25. Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	176
4.26. Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	176
4.27. Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	177
4.28. Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	177
4.29. Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	184
4.30. Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	184
4.31. Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	185
4.32. Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	185
4.33. Valores de IA obtenidos para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	192
4.34. Valores de IA obtenidos para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	192
4.35. Valores de IA obtenidos para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	193
4.36. Valores de IA obtenidos para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.	193
4.37. Resumen de las medias y desviaciones estándar iniciales y finales de los parámetros bioquímicos estudiados en los grupos control, colesterol, Sideritis y simvastatina.	200

La enfermedad cardiovascular aterosclerótica es una afección crónica que se desarrolla de manera insidiosa a lo largo de la vida. La sintomatología característica suele aparecer en estadios avanzados de esta enfermedad. A pesar de que la mortalidad cardiovascular ha disminuido considerablemente en las últimas décadas en muchos países europeos, la enfermedad cardiovascular aterosclerótica es una de las principales causas de muerte prematura en Europa. Se estima que más del 80 % de la mortalidad cardiovascular total ocurre actualmente en países en desarrollo.

Esta enfermedad causa además un elevado número de casos de discapacidad siendo la causa somática más importante de pérdida de productividad¹. Esta patología constituye la primera causa de morbilidad y mortalidad en muchos países del mundo, y sus consecuencias se presentan en todos los órganos y tejidos; en muchas ocasiones con graves lesiones y resultados fatales (Alfonso et al., 2001).

La enfermedad cardiovascular está muy relacionada con el estilo de vida, especialmente con el consumo de tabaco, los hábitos alimentarios poco saludables, la inactividad física y el estrés psico-social. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la mera modificación del estilo de vida podría prevenir más de las tres cuartas partes de la mortalidad cardiovascular. La prevención de la enfermedad cardiovascular —que sigue siendo un reto importante tanto para la población general como para los responsables políticos y los profesionales de la salud— se define como *una serie de acciones coordinadas, poblacionales e individuales, dirigidas a erradicar, eliminar o minimizar el impacto de las enfermedades cardiovasculares y la*

¹Se estima que la pérdida total de años de vida por discapacidad aumentará de 85 millones (dato correspondiente a 1990) a 150 millones (estimación para el año 2020).

discapacidad asociada a ellas (Perk et al., 2012).

Existe un gran número de personas asintomáticas en grave riesgo de sufrir un evento cardiovascular por presentar dos o más factores de riesgo. En más del 60 % de los casos no se controlan estos factores de forma adecuada, siendo todavía las mejoras algo escasas. Más de un tercio de los pacientes con infarto agudo de miocardio muere antes de llegar al hospital sin recibir un tratamiento eficaz (Banegas et al., 2006).

El desarrollo y progresión de las lesiones ateroscleróticas ha sido estudiado de forma extensa (Marinou et al., 2010) y se sabe que es un mecanismo complejo que requiere multitud de pasos. Existe un gran número de factores genéticos, metabólicos y ambientales que intervienen en la formación y evolución de la placa de ateroma. La oxidación de las lipoproteínas y los procesos oxidativos en general juegan un importante papel en la patogénesis de la aterosclerosis. De hecho, estudios *in vitro* (Jialal y Grudy, 1992; Kleinveld y Demackeret, 1994) han atribuido a las moléculas de c-LDL (lipoproteínas de baja densidad) la capacidad de actuar como agentes aterogénicos, ya que las moléculas de c-LDL oxidadas muestran una multitud de potenciales efectos aterogénicos *in vivo* e *in vitro*. Partículas tipo lipoproteína con daño oxidativo han sido aisladas de las lesiones ateroscleróticas. Las células que existen en la pared arterial en mayor cantidad, células endoteliales, monocitos/macrófagos y células de la musculatura lisa, son capaces de producir una modificación oxidativa de las moléculas de c-LDL. La modificación oxidativa de las moléculas de c-LDL producida por los macrófagos también ocurre de forma independiente de su unión al receptor de c-LDL. Las moléculas de c-LDL oxidadas son proaterogénicas por diferentes mecanismos (Ramirez-Tortosa et al., 1999):

- Son captadas más fácilmente por parte de los macrófagos, que se enriquecen en ésteres de colesterol y se convierten posteriormente en células *foam* (células espumosas).
- Presentan una acción quimiotáctica de los monocitos circulantes y linfocitos T, que deriva en acciones citotóxicas.
- Alteran la agregación plaquetaria.

La hipótesis oxidativa de la aterogénesis ² y la acción de micronutrientes como las vitaminas antioxidantes en el proceso de oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) ³ han

²La hipótesis oxidativa fue propuesta inicialmente por Steinberg et al. (1989).

³low density lipoprotein

constituido un atractivo desafío en las investigaciones actuales por sus implicaciones en la medicina preventiva. En los últimos años la hipótesis de que los antioxidantes que inhiben la oxidación de las c-LDL pueden reducir la incidencia de eventos coronarios ha creado nuevos interrogantes. En este sentido se han realizado estudios aleatorizados frente a placebo y se han obtenido resultados contradictorios. Así, en diversos estudios realizados con vitaminas antioxidantes en humanos, los resultados obtenidos sugieren que estas sustancias pueden disminuir la incidencia de aterosclerosis y sus complicaciones (Guerra, 2007).

Diferentes estudios experimentales, epidemiológicos y clínicos han subrayado el papel que desempeñan los lípidos en las ECV. Esta realidad ha contribuido al éxito de los fármacos hipolipemiantes y en particular, de las estatinas. Las estatinas son los medicamentos más avalados por ensayos clínicos aleatorios y meta-análisis que demuestran su eficacia para reducir de forma significativa los niveles de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad y el riesgo de ECV, la morbilidad y la mortalidad cardiovascular, sin límite inferior a partir del cual la disminución de lípidos no es beneficiosa (Martinez et al., 2004). Por tanto, las estatinas son los fármacos que más han contribuido a la prevención de las enfermedades cardiovasculares en la población mundial y su uso sigue aumentando día a día, sobre todo en las personas de edad media o avanzada. Estos fármacos pueden disminuir el c-LDL por encima del 50 % y 20 años después de su comercialización, siguen siendo los más eficaces para tratar la hipercolesterolemia. Las estatinas disminuyen además la concentración de triglicéridos plasmáticos y, aunque en menor grado, aumentan la concentración de las lipoproteínas de alta densidad ⁴ (c-HDL). Numerosos estudios experimentales han demostrado que las estatinas tienen además otros efectos no relacionados con el metabolismo lipídico, los denominados efectos pleiotrópicos, que en su mayoría pueden ser protectores frente a la aterosclerosis. Entre ellos, cabe destacar sus acciones antiinflamatoria, antioxidante y antitrombótica. Sin embargo, no todos los efectos de las estatinas pueden considerarse favorables. Al tratarse de fármacos que inhiben la cadena de síntesis de colesterol en su inicio, su acción repercute sobre distintas rutas bioquímicas con efectos fisiológicos son muy diversos (Pinto y Formiga, 2012).

Los controles por los que tiene que pasar un medicamento son muy estrictos y los fármacos actuales son, en general, bastante seguros, pero las reacciones adversas siguen apareciendo. Por ello se ha suscitado un renovado interés por los medicamentos naturales de origen vegetal.

⁴high density lipoprotein

Las plantas han sido utilizadas como remedio a lo largo de la historia para las dolencias de los seres humanos y se ha avanzado considerablemente en el conocimiento de la composición de muchas plantas medicinales (Pamplona, 2007). La OMS estimó que un 80 % de la población todavía confía en su uso para el cuidado de su salud (Asgary et al., 2012).

La *Sideritis Hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* es una planta perteneciente a la familia de las labiadas, que contiene compuestos fenólicos y flavonoides con posibles propiedades antioxidantes. No existe en la literatura ningún estudio que valore la actividad antioxidante de esta planta y su acción protectora frente a la aterosclerosis y prevención de ECV, siendo por tanto éste el primero relacionado con el interés que pueda tener su uso en este campo.

Los modelos animales han jugado un papel muy importante en el conocimiento del progreso y evolución de las ECV así como en la forma de actuar para evitarlos. En el estudio de las ECV, el uso de ratas y ratones es inapropiado debido a diferencias muy marcadas en el metabolismo de lipoproteínas, hallazgos patofisiológicos de aterosclerosis y función cardíaca. Sin embargo, el metabolismo lipoproteico y las lesiones ateroscleróticas en conejos y en el hombre se asemejan mucho, lo que ha llevado a desarrollar varios modelos animales para estas enfermedades en conejos (Kobayashi et al., 2011).

En el estudio experimental correspondiente a la presente Tesis se evaluará la eficacia de la planta *Sideritis Hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* en la prevención y tratamiento de la hipercolesterolemia en conejos. A tal fin se utilizará la simvastatina como sustancia patrón de referencia. En el estudio se utilizarán los datos obtenidos en un trabajo realizado anteriormente (Sierra-Vega et al., 2012), en el que se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* de la infusión acuosa de la planta en estudio de manera comparada con la obtenida por un patrón antioxidante conocido como es el ácido ascórbico.

A partir de las afirmaciones expuestas anteriormente, con la realización de este trabajo se pretenden alcanzar los siguientes objetivos:

- Determinar los niveles de colesterol total (CT), apolipoproteína-B (apo-B), triglicéridos (TG), c-HDL, c-LDL, lipoproteína de muy baja densidad ⁵ (c-VLDL) e índice aterogénico (IA) en las muestras de sangre extraídas a los conejos al inicio del estudio y tras cinco y diez semanas desde su inicio.

⁵very low density lipoprotein

- Evaluar la actividad hipocolesterolemiaante de *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* y su eficacia preventiva, utilizando como patrón simvastatina.

2.1. Mecanismos de acción hipocolesterolemiantes de las plantas

Algunas plantas se caracterizan por su actividad hipocolesterolemiantes. Ésta se desarrolla a través de distintos mecanismos: principalmente por su acción antioxidante, por inhibición de la síntesis de colesterol, de su absorción o por aumento de su catabolismo.

2.1.1. Acción antioxidante

Un radical libre es cualquier especie química (átomo, ión o molécula) capaz de existir de forma independiente, presentando uno o más electrones desapareados en su estructura. Es el caso del anión superóxido (O_2^-), del radical hidropéroxido (HOO) y del radical hidroxilo (OH^-). Las especies reactivas incluyen no sólo los radicales libres propiamente dichos, sino también algunas especies no radicales sin electrones desapareados. Poseen al menos un electrón en un orbital de mayor contenido energético correspondiente a su estado fundamental, lo que las hace más reactivas, pudiendo incluso generar radicales libres. Las más importantes son las especies reactivas del oxígeno (ERO). Algunos ejemplos son el ozono (O_3), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ácido hipocloroso (ClOH) y el oxígeno singlete (1O_2).

Estos radicales libres y especies reactivas pueden provenir de una fuente de naturaleza endógena, o exógena. Entre las endógenas se encuentran el sistema de transporte electrónico mitocondrial, el sistema de transporte electrónico microsomal, diversas enzimas oxidativas citosólicas y peroxisomales, las hemoproteínas y la actividad derivada del proceso de fagocitosis. Entre las fuentes exógenas destacan los xenobióticos, determinados venenos o toxinas, diversas moléculas propias de los fenómenos de la contaminación, las radiaciones ionizantes, fármacos

diversos, el ozono, hiperoxia e isquemia, alcohol, etc. (Lorenzo et al., 2012).

Se ha demostrado que tanto los radicales libres como las especies reactivas se producen de forma constante *in vivo* en todas las especies que utilizan el oxígeno, por lo que éstas deben poseer un sistema de defensa antioxidante para protegerse de ellos, además de mecanismos reparadores que impidan la acumulación de las moléculas oxidadas.

Un antioxidante es cualquier sustancia que a bajas concentraciones en presencia de un sustrato oxidable (biomolécula), retrasa o previene la oxidación del mismo, siendo frecuente que ellas mismas se oxiden. La salud del organismo depende en gran medida de sistemas antioxidantes que actúan evitando la formación de radicales libres y especies reactivas. Entre las sustancias de origen natural con acción antioxidante se encuentran algunas vitaminas, el ácido úrico, carotenoides, fenoles y polifenoles. De forma breve nos referiremos a continuación a su mecanismo de acción y citaremos plantas que las contienen.

Vitaminas antioxidantes

La vitamina E actúa como un potente antioxidante lipofílico y supresor del daño oxidativo en membranas biológicas, lipoproteínas y tejidos, considerándose el mejor antioxidante liposoluble en células de mamífero y sangre. Esta vitamina contiene un grupo hidroxilo fenólico, responsable de su actividad antioxidante y una cadena lateral que favorece su inserción en la región lipofílica de la membrana. En un ambiente de estrés oxidativo, este antioxidante transfiere su hidrógeno fenólico al radical libre convirtiéndose a la vez en un radical tocoferoxilo. Este radical puede seguir varias vías, siendo una de ellas su regeneración a vitamina E mediante agentes reductores, siendo el ácido ascórbico el más eficiente en un ambiente hidrofílico y la coenzima Q en un ambiente hidrofóbico. Los aceites de *Glicine max*, L. (soja), *Gossypium barbadense*, L. (algodón) y *Zea mays*, L. (maíz) contienen vitamina E. El aceite de la *Roystonea regia*, (Kunth) O.F.Cook (palma real) contiene antioxidantes naturales como los tocoferoles, vitamina E y tocotrienoles.

La vitamina C es un excelente antioxidante hidrosoluble. Su principal mecanismo antioxidante es la regeneración de la vitamina E a través de su interacción con el radical tocoferoxilo. La *Psidium gajaba* L. (guayaba) presenta un alto contenido en vitamina C.

Ácido úrico

Producto de oxidación de la hipoxantina y xantina a través de la xantina oxidasa y xantina deshidrogenasa. Es un potente inactivador del oxígeno singlete y atrapa radicales peroxilos en fase acuosa de modo más eficaz que el ácido ascórbico. El efecto antioxidante del ácido úrico *in vivo* depende directamente del nivel de alantoína, uno de los productos de su oxidación.

Carotenoides

Existen más de seiscientos carotenoides, de los cuales cerca de cincuenta son precursores de la vitamina A o retinol. Pueden actuar como antioxidantes debido a su doble sistema de enlaces conjugados. Se ha comprobado su capacidad de reaccionar con el oxígeno singlete,¹ radical peroxilo, anión superóxido y otras especies reactivas. Sin embargo, su capacidad antioxidante depende de la concentración de oxígeno existente, de su estructura química y del efecto potenciador de otros antioxidantes. Aunque en la naturaleza se encuentran cientos de carotenoides hay muy pocos en tejidos humanos, siendo los mayoritarios el β -caroteno, α -caroteno, licopeno, astaxantina y luteína. Existen plantas como la *Daucus carota*, var. *sativa* Hoffm. (zanahoria), la *Curcubita maxima*, Duch. (calabaza), y otros frutos coloreados, con un amplio contenido en β -carotenos, precursores de la vitamina A (Lorenzo et al., 2012).

Fenoles y polifenoles

Constituyen un amplio y heterogéneo grupo de compuestos que se subdivide en clases: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y estilbenos (figura 2.1).

Flavonoides

Los flavonoides son el grupo más ampliamente distribuido en las plantas. Existen seis subclases: antocianinas o antocianidinas, flavonas (apigenina), flavonoles (quercetina, figura 2.2), flavanonas (naringenina), flavanoles (epicatequina) e isoflavonas (genisteína). Presentan una amplia actividad farmacológica, ya que pueden quelar iones metálicos, catalizar el transporte de electrones y secuestrar radicales libres. Los criterios químicos para establecer la actividad antioxidante de los flavonoides son la presencia de las siguientes estructuras: un grupo O-dihidroxi en el anillo B que le confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en

¹ importante en la protección de tejidos en plantas

la deslocalización de los electrones, doble enlace 2,3 conjugado con el grupo 4-oxo en el anillo C, grupo OH en los carbonos 3 y 5 de los anillos C y A y función 4-oxo en el anillo C para ejercer el máximo potencial antioxidante.

La configuración del anillo B es la más importante para determinar la capacidad de captura de las especies reactivas del oxígeno, de las especies reactivas del nitrógeno, radicales peróxido y superóxido. Éstas presentan una actividad quelante, impidiendo la existencia de cationes divalentes libres.

Ácidos fenólicos

Son principalmente los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos, que aparecen generalmente en forma de ésteres, destacando el ácido cafeico. Abundan en las frutas verdes, sobre todo en la piel, siendo responsables de sus propiedades astringentes.

Taninos

Son compuestos de elevado peso molecular, altamente hidroxilados, pudiendo formar complejos insolubles con hidratos de carbono y proteínas. Destaca el ácido gálico. Se encuentran en numerosos cereales, frutos secos, etc.

Estilbenos

El más representativo es el resveratrol, encontrado en uvas y vinos. Es capaz de inhibir la oxidación de las moléculas de c-LDL (Lorenzo et al., 2012).

Papel de los antioxidantes en la aterosclerosis

Cuando la defensa antioxidante no es suficientemente efectiva, se incrementa la formación de radicales libres en el organismo, proceso denominado estrés oxidativo. El estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades, como la aterosclerosis. En la aterosclerosis, la formación de las c-LDL oxidadas es un factor de riesgo clave y juega un papel importante en los mecanismos patogénicos de esta enfermedad. De hecho, varios estudios inmunoquímicos con anticuerpos monoclonales específicos para proteínas de unión a lípidos oxidados han puesto de manifiesto la presencia de c-LDL oxidadas en la pared arterial y varios autores las han aislado en lesiones ateroscleróticas, tanto en el hombre como en animales.

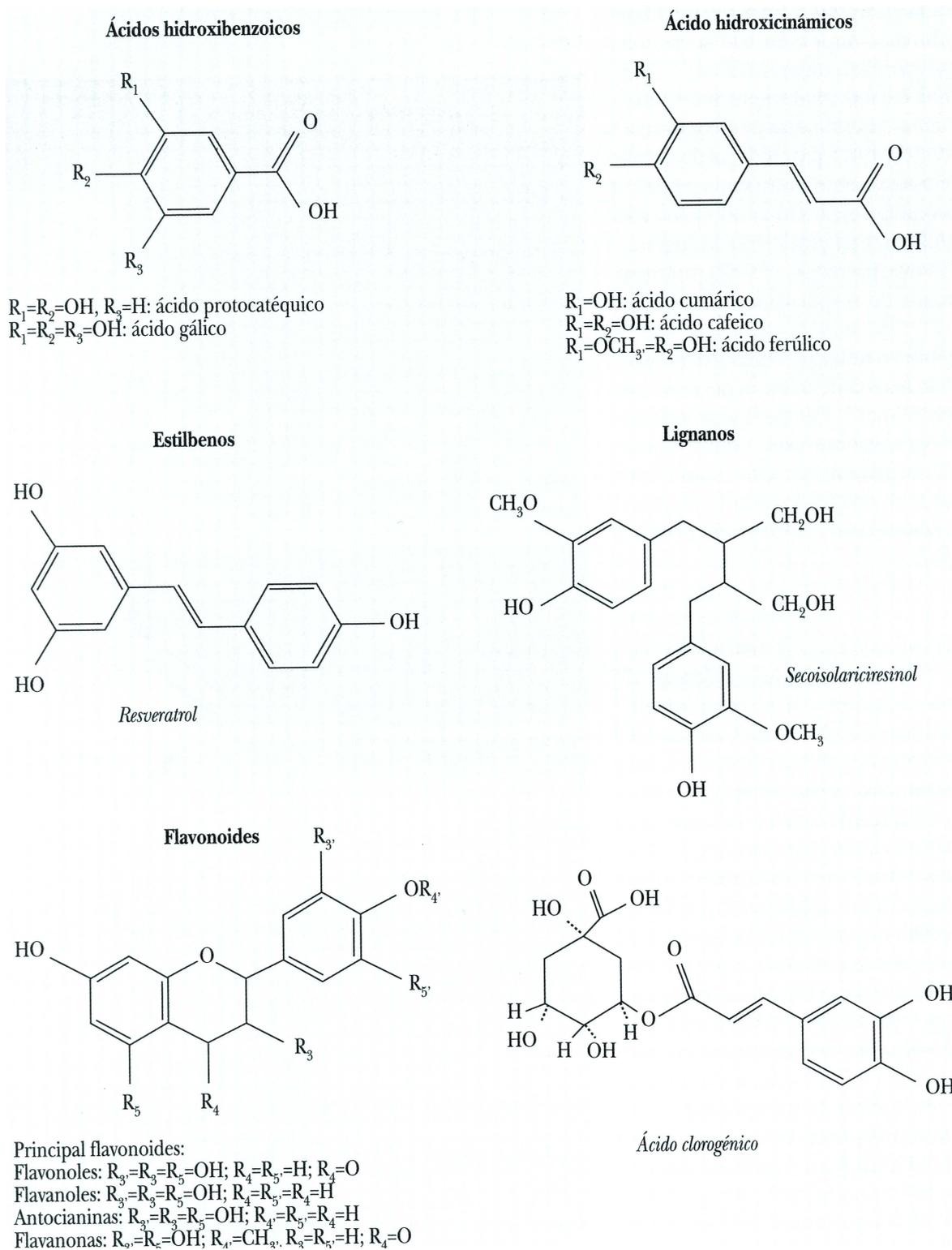


Figura 2.1: Distintas estructuras químicas de fenoles y polifenoles (Fuente: Lorenzo et al., 2012)

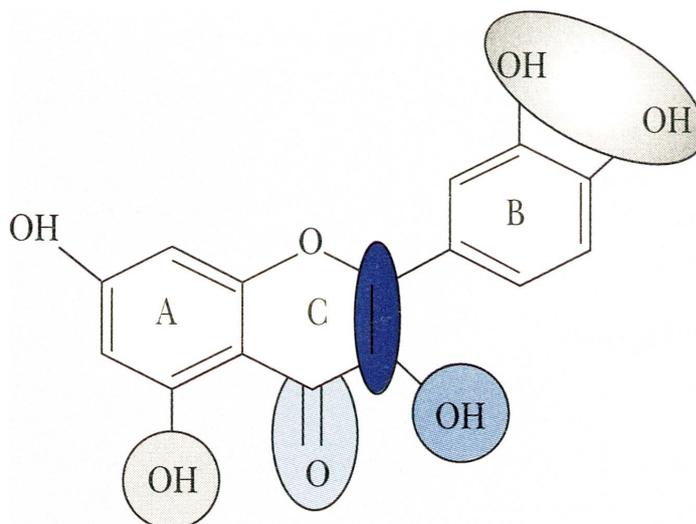


Figura 2.2: Estructura molecular de la quercitina (Fuente:Lorenzo et al., 2012)

Asimismo, la oxidación de los lípidos de la pared vascular contribuye al desarrollo de esta enfermedad y la ingesta de dietas pobres en sustancias antioxidantes es un factor de riesgo. La «hipótesis oxidativa de la aterosclerosis» admite que es la acumulación de colesterol mínimamente oxidado, principalmente en forma de c-LDL, la causante del inicio de la cascada de sucesos que al final se manifiesta en la acumulación de células espumosas y en la formación de la placa de ateroma. Los principales factores de riesgo de esta enfermedad son la oxidación y la posterior acumulación de las c-LDL (Verdu, 2009).

Los antioxidantes eliminadores de radicales libres tienen la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica actuando sobre la cadena transportadora de electrones peroxilo, impidiendo así la progresión de dicha peroxidación mediada por radicales libres, a pesar de la presencia de especies iniciadoras del proceso. Varios antioxidantes lipofílicos como el α -tocoferol, ubiquinol y β -caroteno se encuentran en la partícula de c-LDL y su efecto sobre la inhibición de la oxidación de las c-LDL ha sido estudiado ampliamente. Además de estos antioxidantes intrínsecos se han estudiado otros antioxidantes naturales y sintéticos para evaluar sus efectos protectores sobre la oxidación de las c-LDL. Algunos compuestos clasificados como antioxidantes han demostrado tener propiedades antiateroscleróticas, destacando la gran familia de los compuestos fenólicos. Se han desarrollado numerosos estudios sobre las propiedades antiaterogénicas de estos compuestos, atribuyendo su acción, principalmente, a su capacidad para inhibir la oxidación de las c-LDL (Verdu, 2009).

Plantas que ejercen una función antioxidante

Salvia miltiorrhiza, Bunge.

Wu et al. (1998) estudiaron el efecto ateroprotector del ácido salvianólico B, polifenol presente en la planta *Salvia miltiorrhiza*, Bunge de conocida actividad antioxidante por su capacidad para captar el radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil e inhibir la oxidación de las moléculas de c-LDL de forma más efectiva que el probucol. La administración de esta planta a conejos tuvo un efecto hipocolesterolemiante. Además, las moléculas de c-LDL de los animales a los que se administró esta planta mostraron una mayor resistencia a la oxidación inducida por Cu^{2+} y contenían una mayor concentración de vitamina E que las c-LDL de los animales no tratados.

Ficus bengalensis, L.

Shukla et al. (2004) atribuyen a la corteza de *Ficus bengalensis*, L. propiedades antioxidantes, al observar una disminución en los niveles de los productos resultantes de la peroxidación lipídica mediante la captación de radicales libres como el anión superóxido, hidroxilo y peróxido.

Origanum onites, L.

Ozdemir et al. (2008) demostraron que la planta *Origanum onites*, L. presenta una actividad antioxidante debido a que produce un incremento en la actividad de la enzima paraoxonasa-1 (PON-1)², que tiene un importante papel en la protección de las moléculas de c-HDL y c-LDL frente a la oxidación, mediante la activación de fosfolípidos y productos de la peroxidación lipídica.

Zea Mays, L.

Arroyo et al. (2007) estudiaron la actividad hipocolesterolemiante y antioxidante del extracto hidroalcohólico de la planta *Zea Mays*, L. cuando fue administrado a ratas hipercolesterolémicas. Se observó una disminución del colesterol total, no existiendo diferencias

²La enzima paraoxonasa-1 (PON-1), integrante de las c-HDL, previene la oxidación de lipoproteínas e hidroliza la homocisteína tiolactona.

significativas en los niveles de triglicéridos y c-HDL. Los radicales libres disminuyeron en función de la dosis administrada. Para una dosis de 1000 mg/kg, los niveles de malonildialdehído se redujeron muy significativamente (56,4%).

Coriandrum sativum, L.

Joshi et al. (2012) investigaron la actividad antioxidante e hipocolesterolemia de la planta *Coriandrum sativum*, L. una vez administrada a conejos a los que se les había inducido una hipercolesterolemia. La administración de la planta produjo una disminución significativa en el nivel de peroxidación lipídica y un incremento en las actividades glutatión reductasa (GRD) y catalasa. Además, también disminuyeron los niveles de los parámetros lipídicos (a excepción de c-HDL, que se incrementó) en comparación con los animales a los que no se había administrado el tratamiento.

Curcuma longa, L.

Ling et al. (2012) estudiaron el efecto hipolipemiente y antioxidante obtenido después de administrar el aceite obtenido del rizoma de la planta *Curcuma longa*, L. a ratas hipercolesterolémicas. Los niveles en sangre de CT, c-LDL, ácidos grasos libres y TG circulantes experimentaron una reducción significativa. Los niveles de c-HDL se incrementaron también de forma significativa. Las actividades de la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPX) se incrementaron, mientras que la actividad del malonildialdehído (MDA) disminuyó, suprimiendo reacciones oxidativas. Estos hallazgos indicaron que el aceite extraído del rizoma de esta planta proporciona un efecto protector frente a enfermedades cardiovasculares.

Panax ginseng, C.A.Mey.

Lee et al. (2013) demostraron la actividad hipocolesterolemia y antioxidante de la planta *Panax ginseng*, C.A.Mey. mediante su administración a conejos hipercolesterolémicos durante 4 semanas. Los efectos observados en los animales fueron una disminución de los valores de los parámetros lipídicos y de la peroxidación lipídica (bajos niveles de MDA) y un incremento de la enzima SOD.

***Ilex paraguensis*, A.St.-Hil.**

Bravo et al. (2014) investigaron los efectos de la administración de la planta *Ilex paraguensis*, A.St.-Hil. en ratas hipercolesterolémicas. Los resultados mostraron una potente actividad hipolipemiente reflejada en una disminución de los parámetros lipídicos. Además los niveles de MDA decrecieron, mostrando una menor peroxidación lipídica.

2.1.2. Inhibición de la síntesis de colesterol

Los fitoesteroles son los esteroides presentes en las plantas que forman parte de la estructura de las membranas celulares y presentan una estructura similar a la del colesterol. Erinc et al. (2009) estudiaron la concentración de esteroides del aceite de semilla de adormidera (*Papaver somniferum*, L.), encontrando que los principales esteroides eran el β -sitosterol (de 663,91 a 3244,39 mg/kg), el campesterol (de 228,59 a 736,50 mg/kg) y el Δ -5-avenasterol (desde 103,90 a 425,02 mg/kg).

Los fitoesteroides con doble enlace en el C22 de la cadena lateral, como el estigmasterol y el brasicasterol, impiden la síntesis de colesterol porque inhiben de forma competitiva a la esteroles reductasa, enzima que cataliza la conversión de demosterol en colesterol, acumulándose éste y otros precursores de cadena lateral insaturada en el C24 (Fernandez et al., 2003).

Murty et al. (2010) observaron que el mecanismo hipocolesterolemiante de *Arborium plus* (fórmula herbal compuesta por las especies *Hyppophae ramnoides*, L. y *Rhododendron arboreum*, Sm.) es muy similar al producido por las estatinas, sugiriendo una posible implicación de la inhibición de la enzima HMG-CoA-reductasa en la acción antiaterogénica de ésta formulación.

2.1.3. Inhibición de la absorción de colesterol

Los fitoesteroides presentes en las plantas también son capaces de inhibir la absorción de colesterol, tanto endógeno como exógeno. Al ser los fitoesteroides más lipofílicos que el colesterol, desplazan a éste de las micelas que lo solubilizan y que permiten su absorción por un transportador activo (Plat y Mensink, 2005). El grado de lipofilia del esteroide vegetal depende de la extensión y complejidad que tiene la cadena lateral presente en su estructura.

Los fitoesteroides pueden actuar por tres mecanismos:

- Desplazamiento por competencia al colesterol de la micela mixta, con lo cual éste no será absorbido y será eliminado con las heces (Ros, 2006).
- Inhibición de la acción de la enzima ACAT (Acil-CoA-colesterol-aciltransferasa), impidiendo la esterificación del colesterol y su absorción por el enterocito.
- Excreción del colesterol no esterificado en el enterocito al lumen intestinal a través de un transportador ABC (ATP Binding Casette), que utiliza la energía aportada por la hidrólisis del ATP (adenosín trifosfato) para la eliminación del colesterol.

La reducción de la absorción de colesterol determina que llegue menos colesterol al hígado, teniendo dos efectos compensatorios: aumento de la síntesis e incremento de la expresión de los receptores de las lipoproteínas de baja densidad. El efecto final es una disminución en las cifras de CT (Muñoz Jáuregui et al., 2011).

Arroyo et al. (2007) propusieron que la acción hipocolesterolemiantes de *Zea Mays*, L. (maíz morado), sobre todo reflejada en la disminución de los niveles séricos de CT, podría deberse a su abundancia en taninos, que impedirían la absorción de éste a nivel intestinal.

2.1.4. Aumento de la excreción y el catabolismo del colesterol

Ramirez-Tortosa et al. (1999) estudiaron el efecto hipocolesterolemiantes de la planta *Curcuma longa*, L. rica en un pigmento amarillo, la curcumina, que es utilizado como especia y como colorante alimentario. La administración del extracto etanólico de la planta a conejos hipercolesterolemiantes dió como resultado la disminución de los niveles de lípidos en sangre. Estos autores explicaron el mecanismo de acción de la planta por la capacidad de la curcumina para incrementar la excreción de colesterol en bilis, además de producir una disminución en la saturación de colesterol en bilis y un aumento de la excreción fecal de colesterol.

El hongo *Lentines edodes*, Berk. Pegler es rico en eritadenina, compuesto con propiedades hipocolesterolemiantes debido a que produce una aceleración de la excreción de colesterol en las heces. Esta afirmación fue realizada por Tokuda y Kaneda (1979), que consiguieron dilucidar este mecanismo mediante la determinación de las cantidades de esterol y ácidos biliares excretados por ratas en heces.

El incremento en la excreción de colesterol producida por la administración de la planta *Hibiscus sardarifa*, L. puede ser debido a su riqueza en pectinas, que producen un atrapa-

miento de los ácidos biliares en el intestino y un incremento del catabolismo del colesterol (Hirunpanich et al., 2006). También puede producirse por una esterificación del C16 de los triglicéridos, o por una inhibición de las lipasas, impidiendo la absorción de las grasas y favoreciendo su eliminación (Carvajal-Zarrabal et al., 2009).

Uno de los posibles mecanismos de acción del extracto acuoso de las hojas de *Chamaerops humilis*, L. podría ser la estimulación de la enzima que cataliza la conversión de colesterol en ácidos biliares, la enzima CYP7A1 (colesterol-7- α -hidroxilasa) (Gaamoussi et al., 2010).

2.1.5. Regulación genética

Los factores proaterogénicos como las c-LDL oxidadas y las citocinas inducen muchas clases de genes implicados en la expresión de moléculas de adhesión y citocinas liberadas de células endoteliales, aumentando la proliferación de las células del músculo liso. Se sabe que la vitamina E y la curcumina inhiben la formación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), una citokina proaterogénica. También los antioxidantes fenólicos han sido estudiados por su capacidad de regulación de la expresión de genes implicados en la degradación proteica y en las rutas de transcripción. Las investigaciones actuales sobre patología aterosclerótica tienen como objetivo la búsqueda de una estructura, específica para cada antioxidante o un determinado grupo de compuestos, que regule las rutas de transcripción y los lugares de unión a la región del promotor del gen (Verdu, 2009).

Janeesh y Abraham (2013) encontraron que la administración de la planta *Vigna unguiculata* a conejos hipercolesterolémicos normalizó la expresión genética de genes implicados en aterogénesis y enfermedades cardiovasculares, como los genes que codifican para interleukina-10 (IL-10), PON-1, interleukina-6 (IL-6) y ciclooxigenasa-2 (COX-2).

La principal antocianina (cianida-3-glucósido) presente en la planta *Zea Mays*, L. produce un incremento de la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa, frenando la evolución de la aterosclerosis por sus acciones vasodilatadora y protectora de la oxidación de la molécula de c-LDL (Arroyo et al., 2007).

Jeon et al. (2004) describieron la capacidad hipocolesterolemiante de la naringenina (una glicona de la naringina, flavonoide presente en los cítricos) en un cultivo de células hepáticas HEPG2. Este compuesto redujo la disponibilidad de los lípidos para el ensamblaje de la apo-B, las actividades de ACAT-1 y ACAT-2 en dichas células y de forma selectiva la expresión de la

ACAT-2, incrementando la expresión de los receptores para c-LDL.

2.2. Características botánicas y acciones farmacológicas de *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*

El género *Sideritis* pertenece a la familia de las labiadas. Este género comprende más de 150 especies que se encuentran distribuidas en regiones de clima templado y tropical del hemisferio norte, desde las Bahamas hasta el oeste de China, y desde Alemania hasta Marruecos. Muchas especies se ubican fundamentalmente en el área mediterránea, desde las Islas Canarias y Madeira hasta el Cáucaso. España y Turquía poseen el mayor número de especies diferentes. En España, muchas de ellas se encuentran en el suroeste de la Península Ibérica y en las Islas Canarias. En Turquía, predominan en las regiones Mármara y Aegea (Gušvenc et al., 2005).

El género *Sideritis* es uno de los más interesantes de la Península Ibérica debido a la existencia de un gran número de especies endémicas ibérico-españolas, a su gran variabilidad, y a la capacidad de hibridación de todos sus taxones. Todo ello contribuye a que este género sea uno de los más interesantes y complicados de la flora española peninsular. También hay que considerar su variabilidad ecológica, ya que este género prácticamente se encuentra distribuido en toda la Península, y casi todas sus especies presentan en común el poseer unas marcadas apetencias heliófilas (Abreu, 1982).

El nombre del género *Sideritis* deriva de la palabra griega «sideros» (hierro) en referencia al uso de estas plantas, ya desde tiempos muy antiguos, para curar las heridas producidas con armas de este metal (Font Quer, 2000). Además de sus propiedades vulnerarias, las especies pertenecientes a este género han sido utilizadas de forma popular durante siglos por sus propiedades antiinflamatorias, antiulcerogénicas, digestivas y antimicrobianas (Burgos et al., 2009). El uso terapéutico de las especies pertenecientes al género *Sideritis* fue mencionado por primera vez por Dioscórides en su libro «de Materia Medica», escrito en el siglo I donde se incluye una planta, denominada «siderite», «efectiva para el tratamiento de enfermedades de la piel y respiratorias, como antídoto frente a mordeduras de serpiente, para favorecer la digestión y como diurético» (Font Quer, 2000).

Las especies pertenecientes al género *Sideritis* han sido objeto de interés para muchos botánicos desde muy antiguo debido a las dificultades encontradas en su identificación. En

el siglo XVII Morison (1680-1699) identificó la planta conocida como *Herba Judicae*, utilizada de forma tradicional por los judíos como «vulneraria». Linneo definió de forma concreta el género, describiendo once especies del mismo. *Sideritis hyssopifolia*, L. no fue conocida hasta los siglos XVII–XVIII como una especie incluida dentro del género *Sideritis*, espacio de tiempo en el que esta especie comienza a mencionarse y aparecer en algunos grabados (Obón y Rivera, 1994).

La importante y extensiva utilización de las plantas pertenecientes al género *Sideritis* en la medicina tradicional mediterránea ha sido puesta de manifiesto en numerosos artículos de etnofarmacología. Font Quer (2000) señaló en su libro «El Dioscórides Renovado» un uso generalizado de *Sideritis angustifolia*, Lag. como vulnerario principal en medicina veterinaria en Cataluña en la primera mitad del siglo XX.

En las décadas recientes se han llevado a cabo importantes investigaciones en este género, basadas fundamentalmente en sus propiedades botánicas, fitoquímicas y farmacológicas (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

Es importante señalar que el género *Sideritis* contiene un gran número de especies endémicas. De las 46 especies, 12 subespecies y dos variedades que crecen en Turquía, 36 especies, 10 subespecies y 2 variedades de ellas son endémicas (ratio de un 77 % de endemismo) (Carikci et al., 2007). De las 25 especies *Sideritis* que crecen en Marruecos, 16 son endémicas (Ghoumari et al., 2005). La Península Ibérica y las Islas Baleares contienen 49 especies pertenecientes al género *Sideritis*, siendo 36 de ellas endémicas; en las Islas Canarias este género está representado por 19 especies endémicas (Fraga et al., 2009; Morales, 2000; Morales et al., 2010).

La especie *Sideritis hyssopifolia*, L. se encuentra principalmente en la Cordillera Cantábrica, localizándose en zonas montañosas de Palencia, León y Burgos; y más raramente en Sierra Nevada. También en los Pirineos, Francia e Italia.

La *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* es planta muy poco estudiada y es la que utilizaremos para la realización de nuestro estudio. Denominada comúnmente «hisopillo», «té de peña» o «té de Picos», es además una labiada típica exclusivamente de terrenos húmedos y rocosos del norte de España. Esta planta es endémica, dentro de la Península Ibérica, de las Cordilleras Cantábrica y Pirenaica, y más concretamente de los Picos de Europa.

2.2.1. Taxonomía

La planta objeto de estudio en esta memoria, *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*, presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Lamiaceae*

Subfamilia: *Lamioideae*

Género: *Sideritis*

Especie: *Sideritis hyssopifolia*, L.

Subespecie: *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*

Actualmente la clasificación del género *Sideritis* está basada en aspectos morfológicos, cariológicos, palinológicos y genéticos. De acuerdo a estas características el género *Sideritis* ha sido clasificado en dos subgéneros: *Sideritis* y *Marrubiastrum* (Serna-Ramos et al., 1994).

Obón y Rivera (1994) y Paz y Sosa (1992) hicieron una revisión de estos dos subgéneros, proporcionando llaves dicotómicas, descripciones de las diferentes especies pertenecientes a cada subgénero y mapas de distribución e ilustraciones. Una diferencia significativa entre los subgéneros *Sideritis* y *Marrubiastrum* radica en el número de cromosomas. Mientras que el género *Sideritis* exhibe una continuidad de nueve números diploides (Bosžcaiu et al., 1998), el subgénero *Marrubiastrum* presenta una gran variación en el número de cromosomas, teniendo el mayor número de series aneploides descritas de todas las plantas que crecen en las islas oceánicas (Marrero, 1986, 1988, 1992; Barber et al., 2000). Además, los estudios palinológicos han revelado la naturaleza euripalinológica del subgénero *Sideritis* y la naturaleza stenopalinológica del subgénero *Marrubiastrum* (Serna-Ramos et al., 1994).

La mayor parte de las plantas pertenecientes al género *Sideritis* spp. corresponden al subgénero *Sideritis*. Este subgénero, con un total de aproximadamente 125 especies, incluye especies endémicas continentales repartidas a lo largo de toda la región Mediterránea Occidental, especialmente el sureste de España y el Noroeste de África (Obón y Rivera, 1994). El subgénero *Sideritis* se divide a su vez en 4 secciones. Dos de las secciones que incluyen especies perennes, *Sideritis* y *Empedoclea*, que están distribuidas en el área Mediterránea Oeste (principalmente en la Península Ibérica) y en la zona Este del Mediterráneo (Balcanes, Turquía y Siria), respectivamente. Las otras dos secciones incluyen un pequeño grupo de especies anuales, *Hesiodia* y *Burghdorffia*, que crecen en las regiones Mediterránea y de Asia Central. Muchas de estas especies son subfrutescentes pero no realmente leñosas.

El subgénero *Marrubiastrum* incluye 24 especies leñosas perennes endémicas que crecen en los archipiélagos de Madeira y Canarias. Las especies pertenecientes al subgénero *Marrubiastrum* están divididas en 3 secciones: *Empedocleopsis*, *Marrubiastrum* y *Creticae* (Barber et al., 2002).

Las distintas secciones que encontramos dentro del género *Sideritis* se encuentran esquematizadas en la figura 2.3. Se conocen muchos híbridos entre las especies pertenecientes al género *Sideritis*. Como resultado de estas hibridaciones, la clasificación taxonómica de estas especies es bastante difícil. Para mencionar algunos ejemplos, *Sideritis rodriguezii*, Borja. es un híbrido entre *Sideritis serrata*, Lag. y *Sideritis bourgaeana*, Boiss. (Rivera y Obón, 1990), *Sideritis laderoi*, Socorro & García-Granados es un híbrido entre *Sideritis hirsuta*, L. y *Sideritis lagascana*, Wk. (Socorro et al., 1984) y *Sideritis arizagae*, Font Quer. es un híbrido entre *Sideritis hyssopifolia*, L. y *Sideritis incana*, L. (Mateo y Pisco, 2000). Para aclarar la clasificación sistemática de las especies pertenecientes a éste género se utilizan caracteres morfológicos seguros y el análisis mediante un detector cromatográfico de alta eficacia de metabolitos secundarios como diterpenoides y flavonoides, que actúan como marcadores quimiotaxonómicos propios de esa especie. Así pues, los análisis realizados mediante un cromatógrafo de líquidos de alta eficacia dotado con detectores de ultravioleta y diodoarray (HPLC-UV/DAD) revelaron que el contenido en agliconas flavonoides ayuda a distinguir la diferencia entre *Sideritis scardica*, Gris. y *Sideritis raeseri*, Boiss. & Heldr. La primera es rica en 5,7-hidroxi-flavonas, como el criseriol, mientras que *Sideritis raeseri*, Boiss. & Heldr. es rica en 8-hidroxi-flavonas como la hipolaetina y el 4- metiléter presente en la isoscutelareína (Janesca et al., 2007). Las

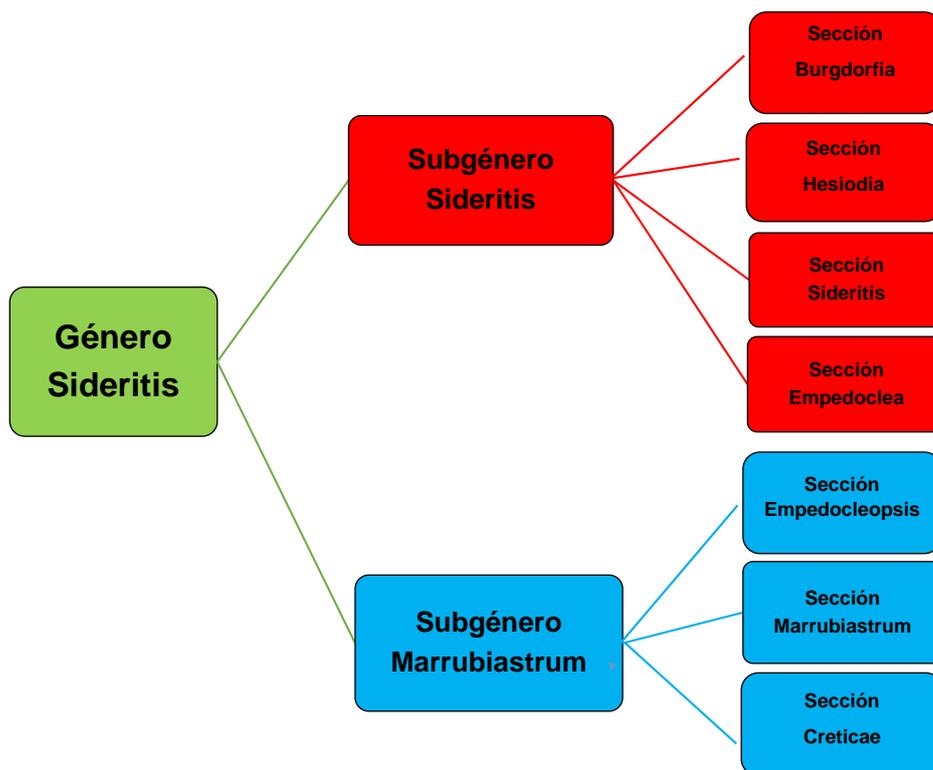


Figura 2.3: División botánica del género *Sideritis*

diferencias en cuanto a la composición en flavonoides ha sido también utilizada para hacer una distinción entre dos de las secciones existentes dentro de la clasificación del género *Sideritis*. Los 7-glicósidos de las 8-hidroxi-flavonas (isoscutelareína, hipolaetina y sus metiléteres) son característicos de la sección *Sideritis*. Los 7-glicósidos de las flavonas apigenina, luteolina y crisoeriol han sido detectados en la sección *Hesioda* (Tomás-Barberán et al., 1988). Además de estos aspectos, se ha observado una variación estacional en la cantidad de flavonoides presentes en *Sideritis spp.* Como un ejemplo de esto, los niveles del flavonoide hipolaetina-8-glucósido aislado de las partes aéreas de *Sideritis mugronensis*, Borja, mostraron su nivel máximo en los inicios del verano (Máñez y Villar, 1990).

2.2.2. Descripción botánica

La *Sideritis hyssopifolia*, L. es una pequeña mata leñosa, de color verde amarillento. Sus tallos de sección cuadrangular pueden alcanzar los 40 cm y están ramificados desde la base,

con pelos en dos caras opuestas y glabros en las otras dos.

Las hojas, opuestas y perennes, de hasta 20 x 5 mm, son de forma linear–lanceoladas, con la base ligeramente cuneada y abrazadora, sésiles, el ápice agudo, con el margen dentado en la mitad distal y pelos simples tanto en el haz como en el envés.

Las flores se reúnen en verticilastros formando una inflorescencia con forma de espiga, de hasta 50 x 15 mm, en el final de las ramas superiores de la planta; tienen unas brácteas triangular–ovadas, de unos 10 x 8 mm, de ápice agudo y margen algo espinoso. El cáliz es acampanado, de 6 a 8 mm, con los dientes igualando casi la longitud del tubo (4–5 mm); diente superior algo más largo con carpostegio en el interior. Las brácteas del cáliz son también dentado–espinosas con una longitud igual o superior al cáliz. La corola, amarilla, bilabiada con el labio superior largo y escotado, es más corta que el cáliz. El androceo tiene 4 estambres casi sésiles, de los cuales 2 son más cortos; tienen los filamentos curvados y pelosos en el borde. El gineceo consta de un ovario súpero superficialmente dividido en 4 y del que surge un estilo. El fruto es un tetraquenio de hasta unos 2 mm y de color marrón oscuro (Menendez Valderrey, 2008). En las figuras 2.4 y 2.5 se muestran dos imágenes de la planta.

La *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* presenta las mismas características, con las excepciones de que puede alcanzar los 50 cm de altura y sus tallos no están excesivamente ramificados. Además, las hojas superiores son más estrechas que las inferiores. Sus inflorescencias son cilíndricas, con un tinte amarillo–verdoso en la base. Posee unas brácteas ovales y un carpostegio discontinuo. Presenta glándulas escasas en la parte exterior del cáliz, además de estambres de 1 mm y un estilo de 3–4 mm (Obón y Rivera, 1994).

2.2.3. Hábitat y ecología

La *Sideritis hyssopifolia*, L. crece en roquedos, fisuras y rellanos, matorrales y pastizales de escasa cobertura vegetal, soleados y de naturaleza caliza, desde el nivel del mar a los 1900 m de altitud. Florece de abril a agosto (Menendez Valderrey, 2008). Es una planta que no soporta la sombra, necesita luz. Requiere de una temperatura fresca para su desarrollo, en piso subalpino, fundamentalmente. Es característica de un clima continental, soportando



Figura 2.4: Imagen de la planta *Sideritis hyssopifolia*, L., «hisopillo» o «té de roca» (Fuente: Morales et al., 2010)



Figura 2.5: *Detalle de las inflorescencias de Sideritis hyssopifolia, L. (Fuente: Morales et al., 2010)*



Figura 2.6: Detalle de la flor de *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* (Fuente: Morales et al., 2010)

grandes variaciones de temperatura. Predomina en suelos secos, actuando como indicadora de un grado de sequedad moderada. Se desarrolla en suelos exclusivamente básicos, con un pH mayor a 6, y pobres en nitrógeno., actuando también como indicadora de suelos ricos en bases (Morales et al., 2010).

La *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*, crece en céspedes, sobre rocas calizas y en suelos pedregosos, en hábitat húmedo y montañoso. Florece entre julio y agosto, y fructifica entre agosto y septiembre (Mayor López y Alvarez Rodriguez, 1980; Polunin, 1982; Obón y Rivera, 1994). En la figura 2.6 se muestra una fotografía de esta planta.

2.2.4. Composición química

Los principales compuestos químicos estudiados en el género *Sideritis* se describen a continuación:

Flavonoides

- **Aglicones libres:** xantomicol, cirsimaritina, cirsiliol, cirsilineol, 8-metoxi-cirsilineol, gardenina B, gardenina D, 5-demetilnobiletina y sideritoflavonas (en general se denominan polimetoxiflavonas).

La sideritoflavona suele ser el componente mayoritario en casi todas las especies. Estos compuestos constituyen un signo de evolución, ya que se considera a las especies que los contienen en elevadas cantidades como especies más desarrolladas. Esto se debe a que estos compuestos permiten la adaptación a ambientes áridos. Las plantas pertenecientes al género *Sideritis* que no los producen, como es el caso de *Sideritis hyssopifolia*, L., crecen en zonas húmedas, donde no los necesitan. Las especies que presentan estos compuestos como su componente mayoritario son típicas de climas áridos.

- **Heterósidos vacuolares:** 7-alosil (1 → 2) glucósidos de crisoeriol, luteolina, apigenina e isoscutelareína, así como derivados de éstos, como los acil-glucósidos (Gabrieli y Kokkalon, 1990; Venturella et al., 1995).

Barberán et al. (1985) y Palomino et al. (1996) determinaron la presencia de flavonoides en diversas especies españolas pertenecientes al género *Sideritis* por HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia)³. Se detectó principalmente la presencia de flavonas, frecuentemente metoxiflavonas, como la desmetilnobiletina (*S. jahandiezii*, Font Quer), sideritoflavona (*S. maireana*, Font Quer & Pau) o xantomicol (*S. briquetiana*, Font Quer & Pau). Además, algunos estudios han revelado la presencia de flavonas metiladas y flavanonas en diversas especies procedentes de las Islas Canarias (Fernández et al., 1988). Se estableció una correlación entre el tipo de flavonoide y la distribución geográfica: las 5,6,7-flavonas trioxigenadas (cirsimaritina, salvigenina o nepetina) son predominantes de especies Macaronésicas, mientras que la presencia de 5,6,7,8-flavonas tetraoxigenadas (sideritoflavona, xantomicol o gardenina-B) es típica de las especies mediterráneas (Gil et al., 1993).

³ high-performance liquid chromatography

Terpenos

Encontramos una gran variedad de diterpenos en el género *Sideritis*. Se han encontrado por lo menos 160 diterpenos diferentes con una variabilidad estructural importante, aislados e identificados de la parte aérea de las plantas (Piozzi et al., 2006). Un importante número de estudios han puesto de manifiesto la presencia de diterpenoides, especialmente en aquellas plantas que crecen en la Península ibérica y en las Islas Canarias (Gomez-Serranillos et al., 1997). Son frecuentes en el género *Sideritis* los diterpenos derivados del anillo kaureno, como el foliol, sidol, lineariol, sideridiol e isolinearol. Son también bastante comunes los diterpenos derivados del labdano (ribenol y andalusol), beyerano (tobarrol y conchitriol), rosano (lagascatriol) y atisano (serradiol) (Gonzalez-Burgos et al., 2011). Un componente muy característico del género *Sideritis* es el borjatriol (Jimenez et al., 1990). El género *Sideritis* también posee sesquiterpenos (Cabrera et al., 1988).

Aceites esenciales

Baser (2002) y Kirimer et al. (2004) clasificaron las especies pertenecientes al género *Sideritis* de Turquía en 5 grupos, en función del principal aceite esencial encontrado:

- Ricos en monoterpenos hidrocarbonados
- Ricos en monoterpenos oxigenados
- Ricos en sesquiterpenos hidrocarbonados
- Ricos en diterpenos
- Otros

El 57 % de las especies pertenecientes al género *Sideritis* de Turquía contiene monoterpenos hidrocarbonados como mayor constituyente. Los aceites esenciales que se encontraron en mayores cantidades fueron α -pineno, β -pineno, β -felandreno, sabineno y mirceno. Los constituyentes principales encontrados en las especies ricas en sesquiterpenos (27 % de las especies pertenecientes al género *Sideritis* de Turquía, aproximadamente) fueron cariofileno, germacreno y calameno. No es frecuente la presencia de derivados oxigenados en las especies pertenecientes al género *Sideritis* de Turquía.

Los monoterpenos hidrocarbonados también han sido el principal constituyente encontrado en las especies pertenecientes al género *Sideritis* que crecen en Grecia y en España (Palá-Paúl et al., 2006).

Otros componentes

(Gonzalez-Burgos et al., 2011) encontraron que existen dentro del género *Sideritis* otros componentes como los esteroides (β -sitosterol y derivados), alcoholes y parafinas lineales y ácidos grasos y sus ésteres, taninos catéquicos, cumarinas, antocianos, iridooides, saponinas y alcaloides.

Rodríguez-Lyon et al. (2000) demostraron la presencia de cuatro flavona glicósidos en la especie *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* aislándolos mediante técnicas de espectrofotometría UV, espectrometría de masas y espectroscopía por resonancia magnética nuclear en 1D y 2D. Los componentes aislados fueron los siguientes: 4'-O-metiliscutelareína-7-O-[6'''-O-acetil-D-allopyranosyl-1 \rightarrow 2]-6''-O-acetil- β -D-glucopiranosido (1), hipolaetin-7-O-[6'''-O-acetil-D-alopiranosil-1 \rightarrow 2]- β -D-glucopiranosido (2), hipolaetin-7-O-[6'''-O-acetyl-D-allopyranosyl-1 \rightarrow 2]-6''-O-acetyl- β -D-glucopiranosido (3) e isoscutelarein-7-O-[6-O-acetil-D-allopyranosil-1 \rightarrow 2] β -D-glucopiranosido (4) (figura 2.7).

2.2.5. Actividad farmacológica

Actualmente, la importancia del género *Sideritis* radica en el tipo de patologías para las que se utilizan las preparaciones de las partes aéreas de estas plantas: gastritis, úlcera gástrica, inflamación de membranas mucosas, quemaduras y heridas, por citar algunas. Se preparan infusiones y decocciones de las partes aéreas y se administran por vía oral o tópica, indistintamente, en forma de compresas o baños en el último caso. Además, algunos componentes aislados del género *Sideritis* han demostrado presentar propiedades antiproliferativas, anti-VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) e inhibidoras del apetito (Burgos et al., 2009). Las plantas pertenecientes al género *Sideritis* ha sido utilizado en la medicina tradicional en forma de infusión de las partes aéreas, por vía oral o administradas de forma tópica, como antiinflamatorios, antiulcerosos, antimicrobianos, vulnerarios, antiespasmódicos, anticonvulsivantes, analgésicos y carminativos. La infusión de las partes aéreas de diversas plantas endémicas españolas pertenecientes al género *Sideritis* han sido utilizada por sus propiedades gastropro-

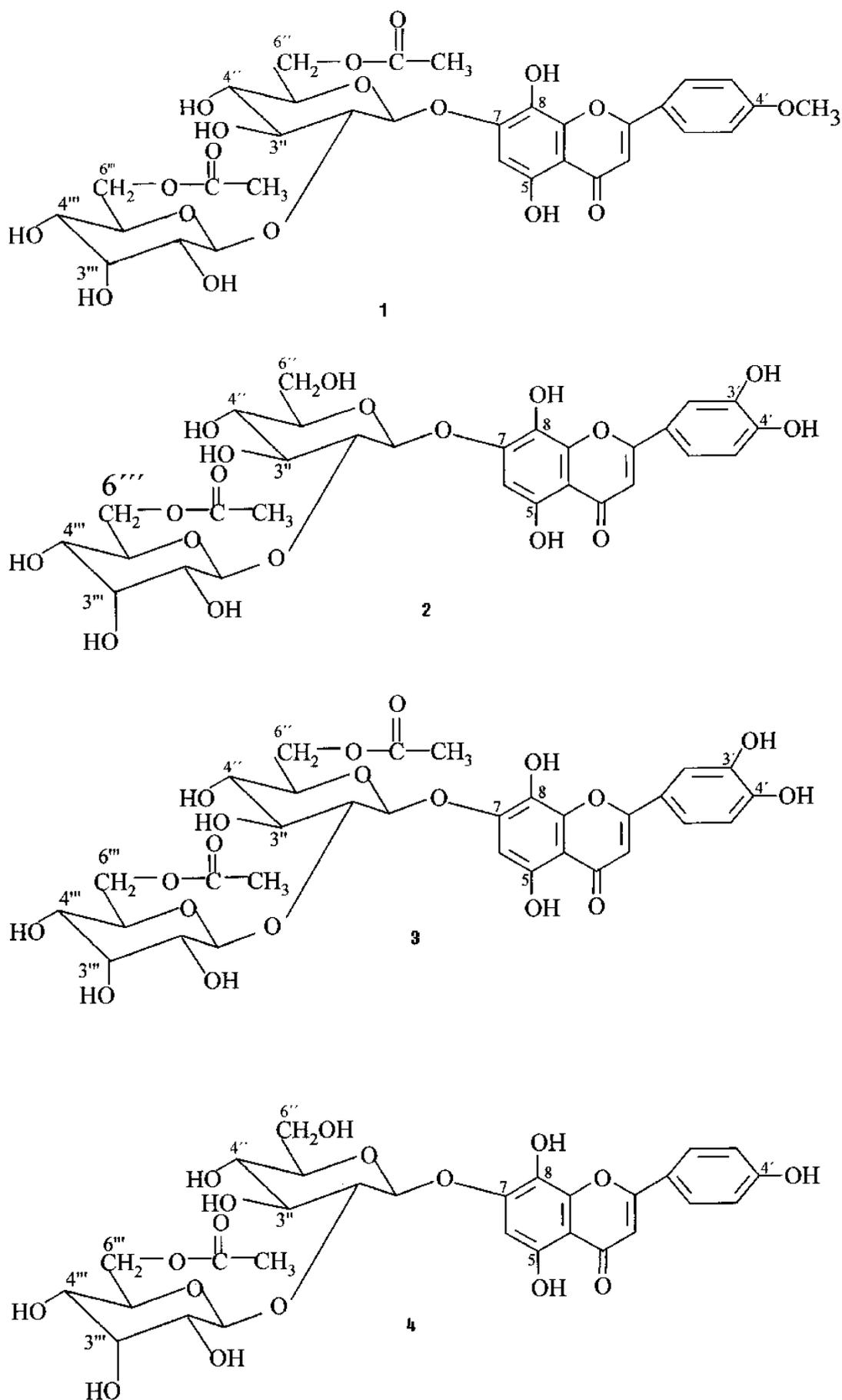


Figura 2.7: Estructura química de algunos flavona glicósidos de *Sideritis hyssopifolia*, *L. subsp. hyssopifolia* (Fuente: Rodríguez-Lyon et al., 2000)

tectoras, mientras que la decocción de las hojas ha sido empleada como antiinflamatorio y antirreumático. Además, el extracto acuoso de los tallos se ha utilizado de forma externa para la desinfección de heridas y quemaduras.

En Turquía y Grecia, la parte aérea de estas plantas se utiliza para la preparación de remedios herbales y tés tradicionales. Estos tés, a veces servidos con miel y limón, son bien conocidos por su agradable olor, por su gusto especial y por su color amarillo. El té obtenido de éste grupo de plantas es utilizado contra los desórdenes gastrointestinales como el dolor de estómago, indigestión y flatulencia; y para aliviar los síntomas del resfriado común, incluyendo fiebre, resfriado y garganta irritada. También es utilizado como tónico y diurético (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

Podemos encontrar englobadas en el género *Sideritis* actividades farmacológicas como las siguientes.

Actividad antiinflamatoria

Las especies pertenecientes al género *Sideritis* son una importante fuente de compuestos de naturaleza antiinflamatoria. Existen numerosos estudios que validan su utilización en la medicina tradicional debido a esta indicación terapéutica.

Navarro et al. (2001) estudiaron el efecto antiinflamatorio de una fracción esterólica compuesta por campesterol, stigmasterol y β -sitosterol obtenida del extracto acetónico de *Sideritis foetens*, Clemente ex. Lagasca. La administración oral de 30 a 60 mg/Kg de la fracción esterólica inhibió la formación de edema en la pata del ratón entre 3 y 7 horas después de la administración de carragenanos. El mayor efecto antiinflamatorio fue obtenido 3 horas después, con valores de 30,1 % para 30 mg/Kg y 37,4 % para 60 mg/Kg de la fracción esterólica. Además, la aplicación tópica de 0,25 %, 0,5 % y 1 mg por oreja de la fracción esterólica redujo la formación de edema en los ratones a los que se le aplicó. Se obtuvieron unos porcentajes de inhibición de 41,43 % y 58,7 %, respectivamente, asociado a una disminución de la infiltración de neutrófilos en los tejidos inflamados.

Actividad antioxidante

Tunalier et al. (2004) estudiaron la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de 27 plantas pertenecientes al género *Sideritis* mediante la medida de Fe²⁺ como inductor de la

peroxidación del ácido linoleico. En todos los casos, el incremento en la concentración generaba un aumento en la actividad antioxidante. Además, el estudio de la actividad captadora de radicales libres mediante el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) mostró que cuanto más alto es el contenido fenólico mayor es la actividad captadora de radicales libres. Las plantas que presentaban una mayor cantidad de compuestos fenólicos y por tanto una mayor actividad fueron *Sideritis amasiaca*, Bornm. y *Sideritis germanicopolitana*, Bornm spp. *viridis* Hausskn. ex Bornm.

Gabrieli et al. (2005) investigaron la actividad antioxidante de nueve 7-O-alosil glucósidos de 5,8-dihidroxi-flavonas sustituidas aisladas del extracto metanólico de las partes aéreas de *Sideritis raeseri* spp. *raeseri* mediante el método de DPPH y el método de quimioluminiscencia luminal inducida por CO (II) EDTA. El resultado fue la observación de una actividad antioxidante moderada en comparación con antioxidantes potentes, como quercitina y trolox.

En nuestro grupo de investigación se evaluó la actividad antioxidante de la infusión acuosa de la planta en estudio, *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*, comparando dicha actividad con la obtenida con un patrón antioxidante de actividad conocida: el ácido ascórbico.

La actividad antioxidante fue superior en las muestras más concentradas (3 g de planta) que en las menos concentradas (1 g de planta). Las muestras más concentradas alcanzaron un porcentaje de inhibición de un 70,82 % a los 7 minutos de lectura de la absorbancia, para un tiempo de infusión de 10 minutos. En las muestras menos concentradas se obtuvo un 27,64 % de inhibición de la formación de radicales libres a ese mismo tiempo.

La inhibición de la formación de radicales libres de la planta, expresada como capacidad antioxidante equivalente a la del ácido ascórbico (AEAC), fue de 2419,35 mg de ácido ascórbico por 100 g de planta para un tiempo de infusión de 10 minutos (referencia).

Actividad antiulcerogénica

Alcaraz y Tordera (1988) estudiaron la actividad antiulcerogénica de hipolaetin-8-O-D-glucósido, un flavonoide aislado de las especies *Sideritis leucantha*, Cav. que se encuentra presente en diversas especies pertenecientes al género *Sideritis* (*Sideritis mugronensis*, Borja., *Sideritis angustifolia*, Lag. y *Sideritis saetabensis*, Rouy.). Este flavonoide redujo las lesiones gástricas y las úlceras inducidas en ratas debido a un incremento en la producción de moco y un decrecimiento de la acidez. De acuerdo con otros estudios, la presencia de un grupo

pirocatecol en la posición 3–4 del esqueleto del flavonoide está relacionado con un incremento de la actividad antiulcerogénica.

Actividad analgésica

Dosis de 400 mg/Kg por vía oral del extracto de éter de petróleo obtenido de las flores de *Sideritis taurica*, Steph. ex Willd. mostró una actividad analgésica similar a la producida por una dosis de 400 mg/Kg de ácido acetilsalicílico a los 45 y 60 minutos (Aboutabl et al., 2002).

Actividad antimicrobiana

Gonuz y Aysel (2006) estudiaron los extractos metanólicos de siete especies pertenecientes al género *Sideritis* endémicas de Turquía⁴. Estas especies mostraron una actividad antifúngica contra *Candida albicans* clotrimazol-resistente. *Sideritis trojana*, Bornm. y *Sideritis bilgerana*, P.H.Davis mostraron la mayor actividad. Relativo a estos resultados, los autores sugieren que estas especies podrían ser utilizadas potencialmente para el tratamiento de la candidiasis.

La *Sideritis hyssopifolia*, L. ha sido una planta utilizada de forma tradicional como diurético, astringente, depurativo y antirreumático. Se utilizan las inflorescencias o la planta entera en forma de infusión o decocción para su uso interno. En uso externo se emplean las hojas aplicadas como emplasto para aplicar en heridas y reducir la inflamación (vulnerario, anti-séptico, antiinflamatorio). También ha sido usada por su efecto antidiarreico. Es una planta muy popular en los Picos de Europa y los Pirineos como digestivo y para el tratamiento de úlceras gástricas (Pardo de Santayana et al., 2005).

La *Sideritis Hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* es una planta utilizada como antiácido, antiflatulento y antiulceroso en los trastornos gástricos (Morales, 2000). Su riqueza en flavona-glicósidos le confieren actividad antioxidante (Rice-Evans et al., 1996). Esta planta se utiliza habitualmente por sus propiedades digestivas.

⁴*Sideritis condensata*, Boiss. & Heldr., *Sideritis bilgerana*, P.H. Davis, *Sideritis trojana*, Bornm., *Sideritis sipylea*, Boiss., *Sideritis dichotoma*, Huter., *Sideritis rubriflora*, Hub.-Mor. y *Sideritis galatica*, Bornm.

2.2.6. Interacciones planta—fármacos

No se ha encontrado ningún trabajo en el que se estudie la interacción de *Sideritis hyssopifolia*, L. con otros medicamentos.

2.3. Otras plantas de la familia *Lamiaceae* con acción hipocolesterolemia

La familia *Lamiaceae* comprende aproximadamente 224 géneros y 5600 especies, distribuidas por todo el mundo (Fontes Esteves y Machado Kuster, 2008). Un gran número de plantas pertenecientes a esta familia han sido ensayadas en animales de experimentación y estudiadas por sus posibles propiedades hipolipemiantes y protectoras frente a la aterosclerosis:

2.3.1. *Ajuga Iva*, (L). Schrb.

La *Ajuga Iva*, (L). Schrb. es una planta utilizada en medicina tradicional en Algeria, tiene propiedades antidiabéticas, antifúngicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, febrífugas y antihemínticas. Chenni et al. (2007) estudiaron el efecto hipolipemiente de la administración del extracto acuoso de esta planta en ratas hipercolesterolémicas. Los resultados de este estudio demostraron una disminución en los niveles de CT y TG y un incremento del status antioxidante⁵, pudiendo producir también una reducción en la absorción intestinal de colesterol.

2.3.2. *Ballota Limbata*, Benth.

La *Ballota Limbata*, Benth. es una planta que crece en el noreste de Pakistán (Ahmed et al., 2009). Su extracto metanólico y sus fracciones etilacética y butanólica presentan una gran riqueza en compuestos polifenólicos que le confieren propiedades antioxidantes (Waheed et al., 2014).

2.3.3. *Ballota undulata*, (Sieber & Fresen) Benth.

El efecto hipolipemiente de *Ballota undulata*, (Sieber & Fresen) Benth. fue demostrado por Qazan (2008), que administró el extracto etanólico de esta planta a conejos hipercoles-

⁵Este incremento de la actividad antioxidante se produce mediante la reducción de la peroxidación lipídica en plasma y el incremento de enzimas antioxidantes.

terolémicos a una dosis de 1,2 g/Kg por día. Se observó una disminución en los niveles de colesterol sérico y triglicéridos.

2.3.4. *Lamium album*, L.

Lamium album, L. es una planta originaria de Europa, Oeste de Asia y Norte de Africa. Es una planta rica en iridoides, compuestos fenólicos, terpenos y aceites esenciales. Presenta gran variedad de acciones farmacológicas, destacando sus propiedades antioxidantes, demostradas por varios autores en diferentes estudios (Yordanova et al., 2014).

2.3.5. *Marrubium alysson*, L.

Marrubium alysson, L. es una planta ampliamente distribuída en Egipto que ha sido utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades hipoglucemiantes, para el tratamiento de catarros, asma, como diurético, inductor del apetito, astringente, gastroprotector y antiviral. Essawy et al. (2014) estudiaron el efecto de la administración de diferentes extractos de la planta en conejos hipercolesterolémicos, demostrando las propiedades de la planta como estabilizador de la placa aterosclerótica, hipolipemiente y antioxidante.

2.3.6. *Melissa officinalis*, L.

El aceite esencial de *Melissa officinalis*, L. presenta una capacidad captadora de radicales libres muy elevada porque es capaz de reducir la formación de radicales DPPH e hidroxilo. Los compuestos que le confieren una mayor actividad captadora de radicales libres son los aldehídos monoterpénicos y cetonas⁶, además de los hidrocarburos mono y sesquiterpénicos⁷, que presentan una mayor actividad farmacológica cuanto mayor es la dosis empleada. Además, la inhibición dosis-dependiente de la peroxidación lipídica cuando se aplica el sistema de inducción Fe^{2+}/H_2O_2 es también considerable (Mimica-Dukik et al., 2004).

Karimi et al. (2010) estudiaron el efecto de la administración de las hojas de esta planta a conejos hipercolesterolémicos, a los que se administró 1 % y 3 % de su aceite esencial. La administración de la planta produjo la disminución significativa de los niveles de lípidos y lipoproteínas séricas en comparación con el grupo al que se administró una dieta estándar, no

⁶neral, geranial, citronelal, isomentona y mentona

⁷E-cariofileno

existiendo diferencias significativas en los valores de IA.

2.3.7. *Melittis melissophyllum*, L.

La riqueza en flavonoides de *Melittis melissophyllum*, L.⁸, proporciona a esta planta una actividad antioxidante y protectora frente a enfermedades cardiovasculares y varía en función de la época de recogida de la planta⁹ (Skrzypczac-Pietraszek y Pietraszek, 2014).

2.3.8. *Ocimum basilicum*, L.

Ocimum basilicum, L. (albahaca) es una planta nativa de Asia, Africa, Sudamérica y de toda la zona mediterránea y es utilizada por sus propiedades antiinflamatorias, vasorelajantes y antiagregantes plaquetarias. El efecto hipolipemiante de esta planta fue estudiado por Harnafi et al. (2013), que observaron una disminución significativa de los niveles de CT, TG y c-LDL, además de un incremento de c-HDL. Se produjo también una reducción en los valores de IA y ratio c-LDL/c-HDL en comparación con los animales no tratados. Además los resultados obtenidos con la planta fueron muy similares a los obtenidos con la administración de fenofibrato.

2.3.9. *Ocimum sanctum*, L.

La administración del aceite de las semillas de *Ocimum sanctum*, L. a conejos hipercolesterolémicos durante 4 semanas produjo una disminución significativa de los niveles de CT, TG, c-LDL y c-VLDL en comparación con los animales no tratados. Además también se observó una disminución significativa de los valores de IA en los animales tratados (Gupta et al., 2006).

2.3.10. *Salvia Hispanica*, L. (Chia)

Salvia Hispanica, L. (Chia) es una planta anual, de verano, originaria de áreas montañosas de México y era utilizada por la cultura maya para proporcionar fuerza. Su riqueza en flavonoides, vitaminas del grupo B y fibra soluble le confiere actividad protectora frente a la aparición de enfermedades cardiovasculares. Los flavonoides le proporcionan actividad antioxidante, las vitaminas del grupo B evitan la aparición de depósitos de placas en las paredes

⁸ cinarósido, rutina, miricetina, quercitrina, quercitina, luteolina, kaempferol y apigenina

⁹ mayor en mayo que en septiembre

arteriales y su riqueza en mucílagos (alrededor de un 27 %) reduce la absorción de colesterol (Cahill, 2003).

2.3.11. *Salvia officinalis*, L.

Kianbakht et al. (2011) estudiaron el efecto de la administración del extracto de las hojas de *Salvia officinalis*, L. a pacientes hipercolesterolémicos observando que resulta efectiva para el tratamiento de la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

2.3.12. *Teucrium arduini*, L.

Teucrium arduini, L. es una planta típica de las regiones balcánicas distribuida a lo largo de la costa adriática. Sus hojas, flores y tallo constituyen una fuente de compuestos polifenólicos (quercitina, ácido ferúlico y ácido rosmarínico) con propiedades captadoras de radicales libres (Kremer et al., 2013).

2.3.13. *Thymbra spicata* L., var. *spicata* Ph. Davis

Kupeli Akkol et al. (2009) evaluaron la capacidad hipocolesterolemiantes y antioxidante de los extractos acuoso, etilacético y dietiléter de la planta *Thymbra spicata*, L. var. *spicata* Ph. Davis¹⁰ en ratones hipercolesterolémicos. La administración del extracto dietiléter produjo una disminución de los niveles de CT, c-LDL, TG y MDA, además de un incremento de los niveles de c-HDL, GRD (glutatión reductasa), SOD y CAT (catalasa) en comparación con los animales a los que no se les administró la planta. El extracto acuoso mostró el mismo perfil, a excepción de la CAT, cuyos niveles disminuyeron. Los niveles de CT, TG y MDA decrecieron con la administración del extracto etilacético, mientras que la concentración de GSH se incrementó. El extracto dietiléter, y parcialmente el extracto acuoso, mostraron una actividad hipocolesterolemiantes y antioxidante significativas.

2.3.14. *Ballota nigra*, L., *Galeopsis tetrahit* L., *Lamium maculatum*, L., *Leonurus cardiaca*, L. y *Marrubium vulgare*, L.

Matkowsky et al. (2008) estudiaron la actividad antioxidante de 5 plantas pertenecientes a la familia *Lamiaceae*, subfamilia *Lamioideae*: *Ballota nigra*, L., *Galeopsis tetrahit*, L., *Lamium*

¹⁰ rica en flavonoides, terpenoides e isoprenoides como timol y carvacrol

maculatum, L., *Leonurus cardiaca*, L., y *Marrubium vulgare*, L. Todas ellas crecen silvestres en zonas de climas templados.

B. nigra, L. es una de las plantas pertenecientes a la familia *Lamiaceae* más frecuente en algunas zonas de Europa. Ha sido utilizada en la medicina tradicional y oficial por sus propiedades sedantes, neuroprotectoras, espasmolíticas, antiinflamatorias y antidiabéticas. Es rica en glicósidos feniletanólicos y fenilpropanólicos, flavonoides cumarínicos y diterpenos.

G. tetrahit, L., es un híbrido entre *G. pubescens*, Besser y *G. speciosa*, Mill. y crece en Europa y América del Norte. Las especies pertenecientes a su género han sido utilizadas como expectorantes, como terapia complementaria para la tuberculosis y otras afecciones pulmonares, así como para curar heridas y picaduras de insectos. Destacan en su composición fenilpropanoides, iridoides, flavonoides y taninos.

L. maculatum, L. no ha sido reconocida como una planta medicinal, pero ha sido utilizada de forma tradicional para mejorar la circulación sanguínea, problemas digestivos y para prevenir el sangrado uterino. En su composición predominan los glicósidos feniletanólicos, algunos iridoides, flavonoides y diterpenos.

L. cardiaca, L., utilizada como tónico cardíaco, hipotensora y sedante suave, contiene diterpenos derivados del labdano, flavonoides, betonicina e iridoides.

M. vulgare, L., cuya composición fitoquímica incluye diterpenoides labdánicos (marrubiina, premarrubiina, marrubenol), glicósidos fenilpropanólicos, flavonoides, taninos, alcaloides pirrolidínicos, sesqui y monoterpenos (estos dos últimos, componentes del aceite esencial), destaca por sus propiedades expectorantes, estomáquicas, espasmolíticas e hipotensoras.

Estos autores realizaron ensayos de captación de radicales libres OH y DPPH, además del estudio del poder reductor de iones de transición metálicos, del extracto metanólico y las fracciones de creciente polaridad petróleo éter, diclorometano, etilacética y butanólica de cada una de las plantas.

Concluyeron que todas las plantas estudiadas pueden proporcionar suficiente protección antioxidante mediante mecanismos complementarios: actividad captadora de radicales libres y reducción de iones metálicos. Además las fracciones polares de *L. cardiaca*, L. y *B. nigra*, L. fueron las más potentes.

2.3.15. *Ballota rotundifolia*, L. y *Teucrium chamaedrys*, L. (C. Koch)

Gursoy y Tepe (2009) determinaron las propiedades antioxidantes de los extractos metanólicos de las especies *Ballota rotundifolia*, L. y *Teucrium chamaedrys*, L. C. Koch, ambas pertenecientes a la familia *Lamiaceae*. Las fracciones polares mostraron una capacidad antioxidante importante.

2.3.16. *Coleus blumei*, L. , *Mentha arvensis*, L., *Ocimum basilicum*, L. y *Orthosiphon stamineus*, Benth.

Zacaria et al. (2008) sugirieron después del estudio *in vitro* de su actividad antioxidante, que las plantas *Coleus blumei*, L., *Mentha arvensis*, L., *Ocimum basilicum*, L. y *Orthosiphon stamineus*, Benth., pertenecientes a la familia *Lamiaceae*, podrían ser utilizadas como protectoras frente a enfermedades cardiovasculares.

2.4. Aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares

La aterosclerosis es un síndrome caracterizado por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias de mediano y grueso calibre, además de depósitos de colesterol y calcio (placas de ateroma). Es la forma más común de arteriosclerosis, término general utilizado en medicina para referirse al endurecimiento de las arterias. La aterosclerosis suele transcurrir sin síntomas durante años hasta que ocurre la trombosis, causa fundamental de las enfermedades coronarias, cerebro vasculares y arteriales periféricas, provocando anginas inestables, infarto de miocardio y muerte súbita (Guerra, 2007).

2.4.1. Historia

La primera evidencia sobre la existencia del colesterol se la debemos al fisiólogo y anatomista francés Poulletier de la Salle, quien en 1769 aisló una sustancia de carácter «aceitoso» (según su propia definición) desde la vesícula biliar de cadáveres. Lo que realmente extrajeron fueron cálculos biliares y la sustancia «aceitosa» la obtuvo al macerar y tratar de extraer de los cálculos su contenido. Quien redescubrió el colesterol años después fue el químico francés Michel-Eugène Chevreul (1786-1889) a quien se reconoce como el «padre» del conocimiento que actualmente tenemos sobre los lípidos en general y sobre las grasas y aceites en particular

(Valenzuela y Morgado, 2005). Chevreul, en 1824, separó de la bilis humana una sustancia que identificó como «similar a una grasa» y que llamó «colesterina» (la que no era otra cosa que el colesterol). Más aún, identificó que la colesterina era el principal componente de los cálculos biliares, algo ya observado por de la Salle. Transcurrieron muchos años más para que la comunidad científica y médica estableciera una vinculación entre la formación de placas de ateroma y la aterosclerosis. Se describen a continuación los orígenes de la aterosclerosis así como los principales descubrimientos que permitieron establecer la asociación entre el colesterol, la aterogénesis y las enfermedades cardiovasculares.

La aterosclerosis aquejó entre otras poblaciones a los egipcios ya que de sus momias tenemos evidencia de la enfermedad. En la época de los romanos y de los griegos, y posteriormente durante la Edad Media, muchas muertes atribuidas a «envenenamiento» resultaron ser, de acuerdo a lo que interpretan los historiadores y patólogos, infartos fulminantes.

Sin embargo, durante muchos siglos esta enfermedad no recibió ninguna atención por parte de los científicos. Incluso, cuando el médico inglés Caleb H. Parry publicó en 1799 su descubrimiento de que la «syncope anginosa», o mejor conocida como «angina pectoris», se debía a la obstrucción de las arterias coronarias, el hallazgo atrajo muy poca atención.

Durante el siglo XIX el interés por la aterosclerosis comenzó a aumentar en el mundo científico. Para explicar su origen en aquella época se proponían tres enfoques diferentes. El primero postulaba que la aterosclerosis era un proceso de envejecimiento y no de enfermedad. El segundo enfoque, difundido por Rudolf Virchow, propuso que la aterosclerosis era realmente una enfermedad que tenía su origen en alguna alteración metabólica de las propias arterias. La tercera visión, defendida por el patólogo austriaco Karl Rokitansky, proponía que el proceso de la aterosclerosis evoluciona a partir de coágulos que se adhieren a las arterias y que se transforman de forma gradual en placas ateroscleróticas típicas.

Por otra parte también existía una gran confusión sobre qué capa de la arteria estaba implicada en el comienzo del proceso (aún no totalmente aceptado como una enfermedad en aquella época). Algunos patólogos pensaban que el proceso aterogénico se inicia en el revestimiento interno o íntimo de la arteria, mientras que otros afirmaban que afectaba ante todo a la capa muscular intermedia. También estaban los patólogos que insistían que la capa externa o adventicia de la arteria era el sitio inicial de la formación del ateroma. Fue F. Marchand, patólogo francés-alemán, quien en 1904 introdujo el término de aterosclerosis, afirmando que

la patología se inicia en el revestimiento interior de la arteria. Marchand diferenció esta lesión de cualquiera que comenzara en otras capas de la arteria.

A.I. Ignatowsky intentó en 1908 inducir aterosclerosis en un animal de experimentación. Escogió un animal herbívoro, el conejo, pensando que sería un modelo muy propenso al desarrollo de esta patología. Alimentó conejos con una mezcla de leche y huevos y observó que a las pocas semanas de aportar la dieta, la aorta de los conejos mostraba las mismas placas blanco-grisáceas observadas en la aorta de los humanos fallecidos de problemas cardiovasculares. Así, obtuvo por primera vez la reproducción experimental de la patología, aunque su interpretación fue errónea. Ignatowsky propuso que era la proteína contenida en la leche y los huevos la que producía los ateromas.

La primera indicación de que el colesterol podría estar implicado en el origen de la aterosclerosis se produjo cuando el patólogo alemán A. Windaus comunicó en 1910 que las lesiones ateromatosas contenían seis veces más colesterol libre que una pared arterial normal, y veinte veces más colesterol esterificado. Sin embargo, los estudios de Windaus no dieron lugar al descubrimiento de la causa principal de la arteriosclerosis. Posteriormente, el médico ruso Nikolai Anichkov centró su atención en el desarrollo experimental de la arteriosclerosis y su relación con el huevo de gallina.

Más tarde, un colaborador de Anichkov, N. W. Stuckey, repitió el experimento de Ignatowsky, salvo que dio a sus conejos tres suplementos diferentes. El primer grupo recibió un homogenizado de tejido muscular de pollo; el segundo grupo un homogenizado de clara de huevo, y el tercero recibió solo yema de huevo. El resultado fue que sólo la aorta de los conejos alimentados con yema de huevo mostraba placas ateromatosas. Este hallazgo dejó suficientemente claro que no era la dieta de proteínas, como Ignatowsky creía, lo que causaba la aterosclerosis en los conejos, sino una sustancia contenida en la yema del huevo pero no en la clara.

Fue otro estudiante de Anichkov, Sergei Chalátov, quien observó que en los ateromas de los conejos alimentados con yema de huevo se producían pequeñas gotitas de grasa que eran birrefringentes. Posteriormente descubrió que el origen de esas gotitas se debía al acúmulo de colesterol en las arterias. También descubrió que no todos los animales desarrollaban ateromas a pesar de los altos niveles de colesterol plasmático que alcanzaban. Propuso que el colesterol no era el único causante de la patología, y que había otros factores, que sin embargo no pudo

identificar, que también incidían con tanto o más efecto que el propio colesterol.

El patólogo Timothy Leary postuló en 1935 que la aterosclerosis era causada por un exceso de colesterol plasmático. En 1940 comenzaron las mediciones del colesterol plasmático en pacientes y a aquellos que lo tenían alto, según las estadísticas de la época, se les aconsejaba disminuir en la dieta el consumo de colesterol, particularmente el consumo de huevos de gallina (Valenzuela y Morgado, 2006).

En un artículo publicado en *Science* en 1950, Gofman comunicó que al separar el suero de conejos alimentados con colesterol, según los protocolos de Anichkov, mediante el uso de la ultracentrífuga, el colesterol se separaba en dos fracciones claramente identificables (Gofman y Lindgren, 1950). Una fracción prácticamente flotaba en la superficie del suero después de la ultracentrifugación y era una mezcla de proteínas, fosfolípidos y colesterol, es decir, una lipoproteína. Gofman la denominó «low density lipoprotein» o «lipoproteína de baja densidad», y que no era otra cosa que la lipoproteína conocida como c-LDL. La otra fracción, también de carácter lipoproteico, era de mayor densidad, por lo cual fue denominada «high density lipoprotein» o «lipoproteína de alta densidad», y corresponde a la lipoproteína que identificamos actualmente como c-HDL. Gofman también observó que mientras en los conejos no alimentados con colesterol, la mayor parte del colesterol era transportado en las c-HDL, en los conejos hipercolesterolémicos el colesterol era mayoritariamente transportado por las recientemente descubiertas c-LDL. Posteriormente, Gofman y su grupo ultracentrifugaron el suero de 104 hombres con antecedentes previos de aterosclerosis y de infarto. En 101 de ellos encontraron elevado el colesterol contenido en las c-LDL. Otro hallazgo de Gofman se refiere a que no es el CT el indicador de riesgo cardiovascular, sino el c-LDL. Durante la década de 1960 y 1970 se desarrolló la técnica de electroforesis, que permite la separación e identificación de las lipoproteínas del suero sanguíneo, con lo cual fue posible la realización de numerosos estudios epidemiológicos que le dieron mucha importancia al peligro potencial del c-LDL.

De forma paralela, pero absolutamente independiente de los estudios de Gofman, Lawrence Kinsell, un médico clínico californiano, descubrió en 1952 que la alimentación con vegetales, asociada a una disminución de la ingesta de productos animales, producía una disminución del colesterol plasmático, particularmente del c-LDL (Kinsell et al., 1952). Este estudio fue confirmado posteriormente por otro grupo de investigadores encabezados por E. H. Ahrens quienes, además, asociaron al consumo de grasas insaturadas con la reducción del colesterol

plasmático (Ahrens et al., 1954) .

En 1958, William Dock publicó un artículo en la revista *Circulation* en el que afirmaba que el colesterol y la composición de la dieta, desempeñan un papel fundamental en el mayor o menor desarrollo de la aterosclerosis en las arterias tanto grandes como pequeñas. También el *Seven Countries Study* de Ancel Keys, realizado entre los años 1950 y 1960, ayudó a establecer la conexión entre el consumo de grasa en la dieta, la dislipemia y el riesgo coronario, al observar cómo en poblaciones con mayor porcentaje de grasa saturada en la dieta, el nivel de colesterol era más alto y era mayor la mortalidad por enfermedad coronaria (Keys, 1970).

Por tanto, a mediados del siglo XX se había conseguido relacionar la aterosclerosis con la hipercolesterolemia. Hubo que esperar a la segunda mitad de siglo para poder descubrir algo que hoy en día es evidente: que la aterosclerosis es una enfermedad multifactorial. Los factores de riesgo cardiovascular, hipertensión arterial, diabetes mellitus, hipercolesterolemia o tabaquismo, ponen a un individuo en riesgo de padecer arteriosclerosis, y este riesgo es mayor cuantos más factores coincidan. Hasta que el *Framingham Heart Study* no se puso en marcha en los años 1950 esta idea no fue realmente considerada. No había datos en las placas de ateroma que hicieran pensar que el tabaquismo o la hipertensión jugasen un papel etiológico en la aterosclerosis.

El *Framingham Heart Study* identificó los principales factores de riesgo (hipertensión arterial, hipercolesterolemia, tabaquismo, obesidad, diabetes e inactividad física) y enfatizó en la necesidad de que coincidan dos o tres factores asociados para que se produzca la enfermedad cardiovascular. En este estudio se siguió el desarrollo de la patología cardiovascular en un período largo de tiempo en un gran grupo de participantes de la ciudad de Massachussets (Boston), que no habían desarrollado aún síntomas de esta enfermedad. Para ello se diseñó un estudio epidemiológico longitudinal en esta población, con el fin de poder determinar la prevalencia, incidencia, morbilidad y mortalidad de las enfermedades cardiovasculares. Ha sido el proyecto de investigación más ambicioso sobre patología cardiovascular realizado en la segunda mitad del siglo XX. En la actualidad han participado en el estudio y han sido seguidas tres generaciones de pacientes. La cohorte original incluía a 5209 varones y mujeres de edades entre 30 y 62 años de la ciudad de Framingham. Se les realizó una extensa exploración física y unas entrevistas sobre el estilo de vida. Posteriormente se analizó todo ello con el fin de encontrar un modelo común relacionado con el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. En

1971 el estudio incluyó a la segunda generación. Eran los hijos y los esposos o esposas de los participantes originales. La tercera generación son los nietos de la cohorte original. Uno de los principales fines del estudio de la tercera generación es determinar los factores genéticos que se relacionan con la enfermedad cardiovascular.

Este estudio también le ha dado gran relevancia a los aspectos relacionados con su prevención, ha conseguido modificar ciertos hábitos de vida poblacionales (disminuir el consumo de tabaco, realizar ejercicio físico moderado, consumo de dietas bajas en grasas, etc...) y ha cambiado el tratamiento y el curso de la patología cardiovascular. También ha aportado información valiosa sobre determinados factores relacionados con la patología cardiovascular y sobre los que existían incertidumbres, como los TG, el c-HDL, la edad, el sexo o los factores psicosociales. Aunque la cohorte Framingham sea principalmente blanca, ha mostrado la importancia de los factores de riesgo cardiovascular identificados al poder extrapolarse casi mundialmente su patrón de riesgo entre grupos raciales y étnicos diferentes.

En las últimas décadas la investigación en ateromatosis ha alcanzado un gran desarrollo. Ha permitido definir y delimitar con mayor precisión el papel de los diferentes factores y marcadores de riesgo cardiovascular. Cómo interaccionan, si son etiológicos o no, los objetivos que deben perseguir las estrategias diagnósticas, preventivas o terapéuticas, así como el grado de control sobre los factores de riesgo que se debe buscar tanto en prevención primaria como secundaria. Actualmente esta investigación continúa con el fin de maximizar el manejo de la enfermedad que causa mayor morbimortalidad en los países occidentales (Herrerros-Ruiz y Bandrés, 2009).

2.4.2. Factores de riesgo cardiovascular (FRCV)

El término «factor de riesgo» en relación a enfermedad cardiovascular y particularmente a enfermedad coronaria fue utilizado por primera vez en el año 1961 en un artículo publicado en el estudio Framingham. Los factores de riesgo en sí mismos, y particularmente los niveles elevados de colesterol sérico, tensión arterial y tabaquismo, han sido considerados en estudios epidemiológicos prospectivos desde su detección sobre el año 1940. Se han llegado a relacionar más de 300 factores de riesgo relacionados con enfermedad coronaria y ataque cardíaco. Algunos de estos factores de riesgo no son nuevos, pero necesitan ser especificados y medidos de forma más precisa, mientras que otros han surgido recientemente. Sólo unos pocos factores

de riesgo son capaces de explicar esta epidemia mundial y el alto riesgo cardiovascular de las poblaciones. Factores sociales, económicos y ambientales, así como influencias comerciales son importantes determinantes de la aparición de estos factores de riesgo. Los principales factores de riesgo para la aparición de enfermedad coronaria se resumen en la tabla 2.1 (Prasad et al., 2010).

Existen variaciones significativas en el impacto de los factores de riesgo sobre la aparición de las distintas enfermedades cardiovasculares. La hipertensión y el perfil lipídico confieren un riesgo incrementado moderado de aparición de enfermedad cardiovascular. Para la enfermedad periférica arterial, el tabaco y la diabetes son los más significativos. De forma similar factores de riesgo como la hipertensión, la hipertrofia ventricular izquierda, la existencia de una enfermedad coronaria previa y la diabetes son vitales para la aparición de un fallo congestivo coronario.

Estos factores de riesgo comunes tienen un grado distinto de influencia sobre la persona en función de la edad en ambos sexos. En general, las mujeres presentan un menor riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular. La presencia de diabetes o niveles elevados de c-LDL en mujeres iguala la diferencia del riesgo que pueda existir entre ambos sexos. El tabaquismo es un factor de riesgo significativo en varones, no acumulativo, y su efecto es reversible después de dejar de fumar. Algunos como la dislipemia, diabetes y fibrinógeno, reducen su impacto a medida que avanza la edad. La hipertensión sistólica, de forma aislada, es un factor de riesgo significativo de prevalencia mayoritariamente en la vejez. La obesidad y el sobrepeso confieren el mayor perfil aterogénico y la inactividad física favorece la aparición de riesgo cardiovascular a todas las edades.

El reconocimiento a tiempo de estos factores de riesgo cardiovascular se traduce en beneficios absolutos en cuanto a prevención de complicaciones precoces que siguen apareciendo aún cuando existe un control estricto de los factores. Se ha observado que la mitad de los pacientes con un infarto agudo de miocardio no tiene el colesterol elevado ni la tensión arterial elevada, en ocasiones son jóvenes y sin antecedentes cardiovasculares. Esto ha obligado a profundizar en cuanto al diagnóstico precoz se refiere, entendiendo que los procesos de lesión endotelial se suceden mucho tiempo antes de que se verifiquen cifras tensionales elevadas y estrías grasas. Por lo tanto, la determinación de lo que se conoce como marcadores bioquímicos de riesgo (como por ejemplo los marcadores de inflamación endotelial) nos han dado una idea clara del

Factores de riesgo cardiovascular importantes modificables	Otros factores de riesgo cardiovascular modificables	Factores de riesgo cardiovascular no modificables	Factores de riesgo cardiovascular de reciente incorporación
Presión arterial elevada	Nivel socioeconómico bajo	Edad avanzada	Exceso de homocisteína en sangre
Dislipemia	Enfermedad mental	Herencia o historia familiar	Coagulación sanguínea anormal
Tabaco	Estrés psicosocial	Sexo	
Sedentarismo	Alcohol	Etnia o raza	
Dieta no saludable	Uso de determinadas medicaciones		
Diabetes mellitus (DM)	Lipoproteína (a), LP(A)		
	Hipertrofia ventricular izquierda		

Tabla 2.1: Principales factores de riesgo cardiovascular (Fuente: Prasad et al., 2010)

riesgo subclínico de muchos pacientes que definitivamente se muestran negativos al escaneo habitual de los factores tradicionales de riesgo. Entre estos biomarcadores utilizados para la predicción del primer evento cardiovascular se encuentran: hsCRP (proteína C-reactiva ultrasensible), BNP (péptido natriurético cerebral), NTpro-BNP (péptido natriurético pro-BNP), aldosterona, renina, fibrinógeno, PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno-1), Dímero D¹¹ y homocisteína (Amarista, 2008).

Aunque el significado relativo de estos factores de riesgo pueden diferir en distintas poblaciones, explican el 75 % de la epidemia global de enfermedad cardiovascular. Las vías que causan la unión entre estos factores y la enfermedad cardiovascular son conocidas. Es evidente que cuando se lucha contra la aparición o la evolución de estos factores de riesgo, las consecuencias se reducen o se evitan. A este respecto la investigación epidemiológica sobre los factores de riesgo pueden, conjuntamente con la investigación clínica y de laboratorio, establecer caminos causales de aparición de la enfermedad.

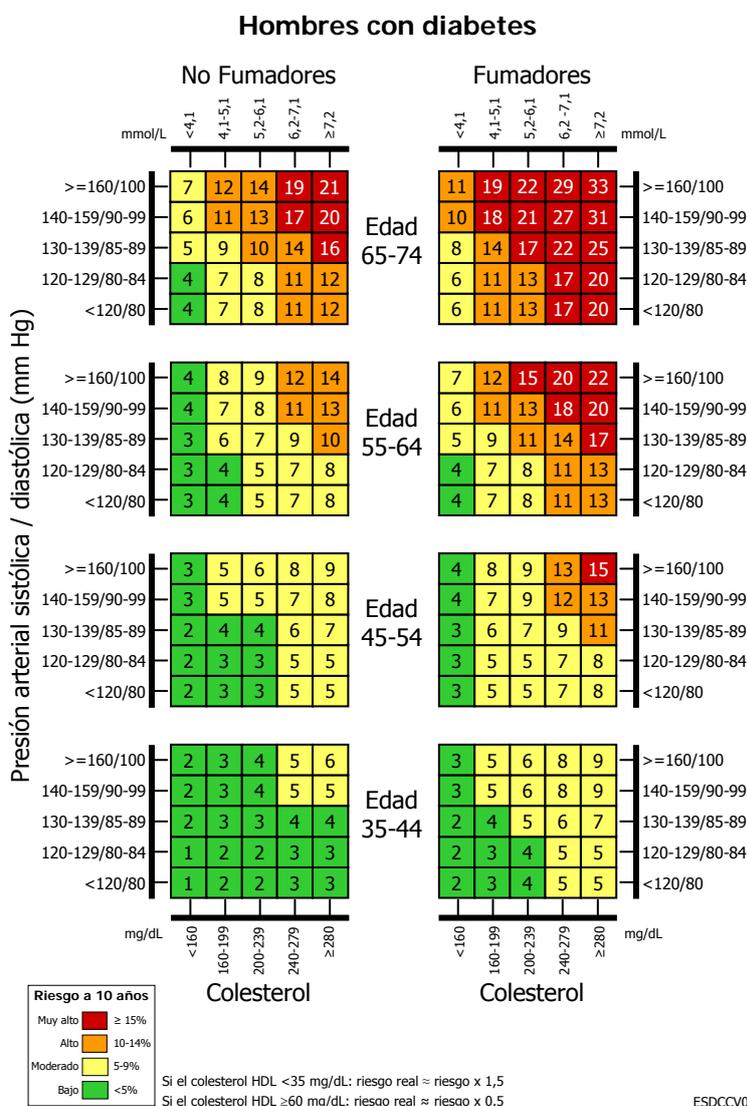
La confluencia de varios factores de riesgo incrementa la posibilidad de aparición de enfermedad cardiovascular. En España, la prevalencia de individuos que presentan dos factores de riesgo es del 31 % en atención primaria. En torno al 6 % de los individuos presenta tres factores de riesgo a la vez. Generalmente, las poblaciones que tienen varios individuos con alto riesgo presentan un elevado riesgo de aparición de enfermedad cardiovascular (Prasad et al., 2010).

Para valorar correctamente el riesgo coronario se utilizan escalas como la de *Framingham*, el *score europeo (Systematic Coronary Risk Evaluation)* o la *escala de Framingham* calibrada para España. Estas escalas son pequeños cuestionarios o tablas que recogen los niveles que tiene la persona de colesterol, la presión arterial, si es o no fumador, la edad, el sexo, si presenta o no diabetes. Con estos datos se puede clasificar a la persona según el riesgo de padecer una cardiopatía coronaria en un tiempo determinado clasificándose en riesgo bajo, ligero, moderado, alto o muy alto. En las tablas 2.2, 2.3, 2.4 y 2.5 se muestran las *escalas de Framingham* calibradas para la población española, según el Registro Gerundense del Corazón (REGICOR)¹² (Cabades, 2007; Solanas et al., 2003) y referidas tanto a hombres como

¹¹ productos de degradación de la fibrina detectados cuando el trombo, en un proceso de coagulación es proteolizado por la plasmina.

¹² El estudio REGICOR se inició en 1978 y constituye una importante contribución al conocimiento de la epidemiología del infarto agudo de miocardio (IAM) en España.

a mujeres, diabéticos y no diabéticos de entre 35 y 74 años. Para calcular el riesgo de padecer una enfermedad coronaria a 10 años se escoge en primer lugar la tabla que nos interesa en función del sexo, presencia o ausencia de diabetes, consumo de tabaco y edad del/la paciente. Posteriormente debe buscarse el punto de unión entre el valor de su presión arterial sistólica y diastólica y sus niveles de colesterol. La escala de colores nos indica el riesgo a 10 años en función del valor encontrado (Marrugat et al., 2011).



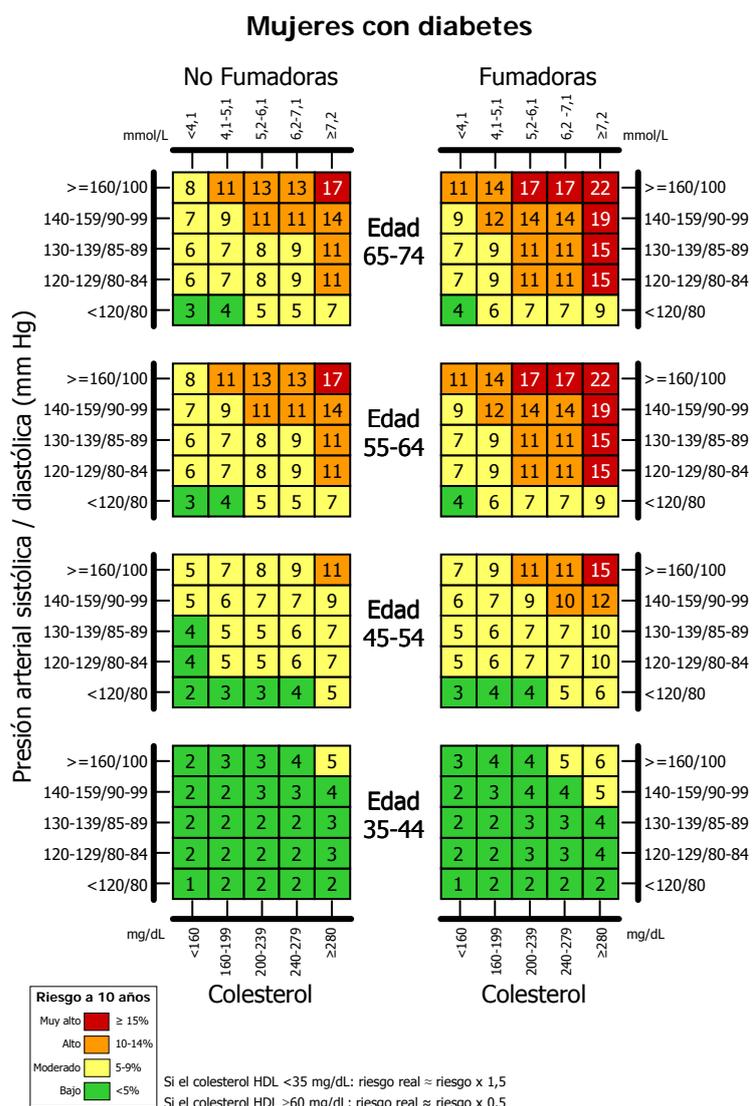


Tabla 2.3: Escala de Framingham aplicada a la población española para mujeres con diabetes (Fuente: Cabadés, 2007; Solanas et al., 2003)

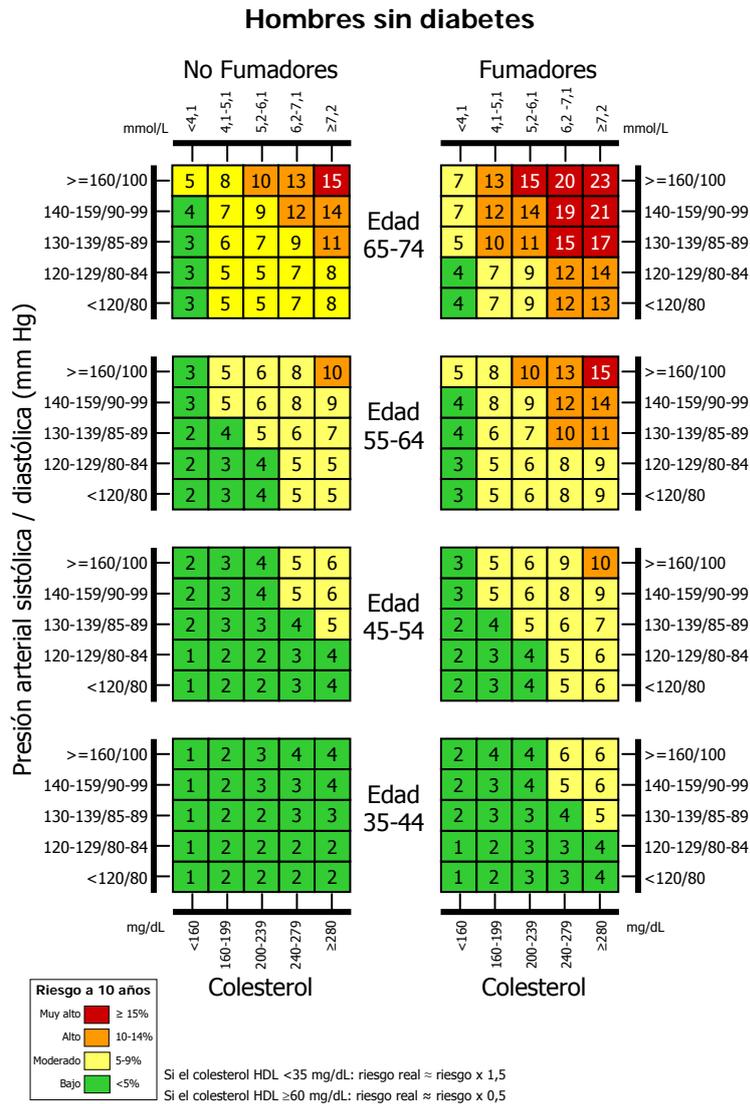


Tabla 2.4: Escala de Framingham aplicada a la población española para hombres sin diabetes (Fuente: Cabadés, 2007; Solanas et al., 2003)

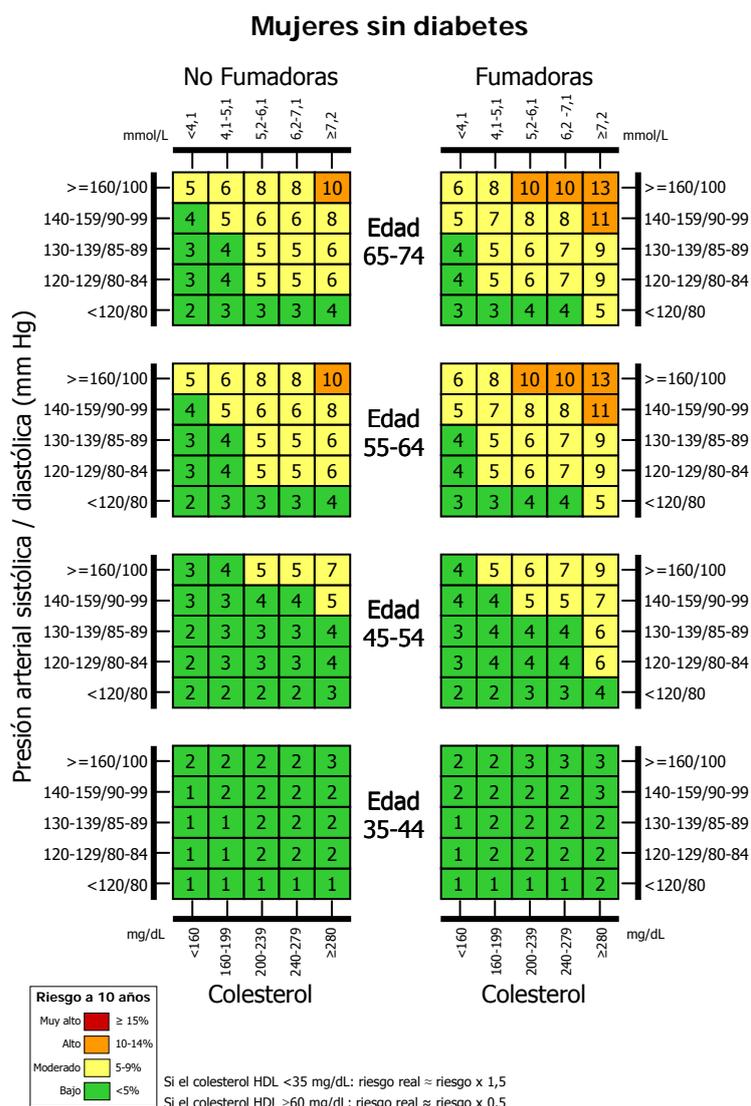


Tabla 2.5: Escala de Framingham aplicada a la población española para mujeres sin diabetes (Fuente: Cabadés, 2007; Solanas et al., 2003)

Es importante señalar que niveles no demasiado elevados de varios factores de riesgo puede contribuir a incrementar de forma significativa el riesgo de padecer en un futuro una enfermedad cardiovascular, con relación al incremento importante de los niveles de un único factor de riesgo, pero a gran escala. Para prevenir la aparición de enfermedad cardiovascular en personas que todavía no la han desarrollado, así como para evitar su progresión en personas ya enfermas, es necesario actuar de forma conjunta sobre todos los factores de riesgo mediante las modificaciones en los estilos de vida y la utilización de medicamentos en caso necesario.

Tabaquismo

Los primeros trabajos que relacionaron el tabaco con la enfermedad cardiovascular fueron el *Minnesota Business Men Study* (Keys et al., 1963) y el *Framingham Study*. Este último estableció la conocida relación dosis–efecto (cada 10 cigarrillos diarios, un 18 % de incremento de mortalidad en hombres y 31 % de mortalidad en mujeres). Hoy día se considera al tabaco como un factor determinante en el cálculo del riesgo cardiovascular.

El efecto sinérgico de los factores de riesgo fue bien estudiado por el *Multiple Risk Factor Intervention Trial* (MRFIT) (Cutler et al., 1986), que examinó la mortalidad por enfermedad coronaria en una cohorte de 316.099 varones. El número de cigarrillos diarios fue un fuerte predictor y su efecto fue sinérgico con los demás factores. Así, los fumadores con la presión sistólica y el CT en el quintil superior tuvieron una mortalidad coronaria 20 veces mayor que los no fumadores en el quintil inferior de colesterol y presión sistólica.

En fecha más reciente, en el estudio INTERHEART¹³ (Teo et al., 2006) se incluyeron 15.152 casos de IAM y 14.820 controles de 52 países distintos con el fin de determinar la relación entre varios factores de riesgo modificables, entre los que se encontraba el tabaco y la incidencia de infarto agudo de miocardio. Tras un análisis multivariante, el tabaquismo activo y la ratio apo–B/apo–A1 fueron los dos factores principales cuando se compararon el quintil más bajo con el más alto.

Está demostrado por tanto que la mortalidad por enfermedad coronaria se eleva en los fumadores, de forma que aumenta entre dos y cuatro veces la probabilidad de padecer enfermedad coronaria y cerebrovascular. Se ha observado además una buena correlación de la incidencia de enfermedad coronaria con los marcadores bioquímicos de la intensidad del consumo como las concentraciones de nicotina, cotinina o de monóxido de carbono (Saban Ruiz y Fabregate Fuente, 2012).

CT y c- LDL

Las niveles sanguíneos de c–LDL son uno de los principales marcadores de riesgo aterogénico. Las moléculas de c–LDL presentan un contenido elevado en ésteres de colesterol, en mayor grado que las c–VLDL. El grupo de las moléculas de c–LDL es heterogéneo. Su tamaño

¹³Estudio caso-control, multicéntrico.

varía en función de la cantidad de lípidos que tenga en su núcleo. Si esta cantidad disminuye, el tamaño de las moléculas de c-LDL también disminuye, generándose un incremento en la densidad y concentración de proteínas. El patrón normolipémico o patrón A se caracteriza por el predominio de moléculas de c-LDL grandes. Por otro lado, el patrón B se asocia a la abundancia de moléculas de c-LDL pequeñas y densas. Los individuos con alto riesgo cardiovascular presentan niveles elevados de estas moléculas de c-LDL pequeñas y densas. La elevada aterogenicidad de estas moléculas se debe a que presentan una mayor susceptibilidad oxidativa, menor afinidad por el receptor de las c-LDL y mayor capacidad de unión a los proteoglicanos en la pared arterial (Castillo et al., 2011).

Existe una relación directa entre los niveles incrementados de CT y la aparición de un ataque cardíaco en pacientes varones europeos, americanos y japoneses (Cui et al., 2012). También se ha establecido que los niveles elevados de CT sérico está asociado a un incremento de la mortalidad cardiovascular en adultos de mediana edad (Weiss et al., 2013).

Los niveles elevados de CT y c-LDL están asociados de forma independiente con un riesgo alto y continuo de enfermedad cardíaca isquémica, incluso en población joven y con un riesgo alto de enfermedad coronaria cardíaca.

En España se han realizado pocos estudios en los que se evalúen los niveles poblacionales de colesterol. El primero se desarrolló en individuos entre 35 y 64 años en 1990. El segundo estudio se realizó en individuos entre 5 y 59 años, entre 1992 y 1994. El estudio más reciente fue el Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular (ENRICA)¹⁴, realizado desde junio de 2008 hasta octubre de 2010 en 12948 individuos de 18 años en adelante. Los resultados mostraron que, de la población adulta, el 50,5 % tenía hipercolesterolemia (CT mayor o igual a 200 mg/dl o tratamiento farmacológico) y el 44,9 % colesterol unido a c-LDL (CT mayor o igual a 130 mg/dl o tratamiento farmacológico) sin diferencias importantes entre sexos. Además, el 25,5 % de los varones tenía colesterol unido a c-HDL menor de 40 mg/dl y el 26,4 % de las mujeres colesterol unido a c-HDL menor de 50 mg/dl. Asimismo, el 23,2 % de los varones y el 11,7 % de las mujeres tenían los TG mayores o iguales a 150 mg/dl. La frecuencia de la dislipemia aumentó hasta los 65 años, excepto la de colesterol unido a c-LDL que no varió con la edad. Entre los que tenían c-LDL elevado, el 53,6 % lo sabían. De ellos, el 41,1 % estaba tratado con hipolipemiantes, y de éstos, el 55,7 % estaba controlado (el 13,2 % de todos

¹⁴Estudio transversal que examina la prevalencia y el manejo de la hipercolesterolemia en España.

los hipercolesterolémicos). El control de los niveles elevados de c-LDL se incrementó con la edad y con el número de visitas al especialista pero disminuyó en personas diabéticas o con enfermedad cardiovascular. De este estudio se concluyó que la mitad de la población española presenta niveles de colesterol elevados y que el control del colesterol es pobre, particularmente en aquellos con mayor riesgo cardiovascular como los diabéticos o los enfermos cardiovasculares (Guallar-Castrillón et al., 2012).

c-HDL

Las moléculas de c-HDL son las lipoproteínas que presentan mayor densidad (1,063–1,21 g/ml) pero el menor tamaño (4–13 nm). El 50 % de su composición son proteínas y el otro 50 % son lípidos. En el núcleo proteico encontramos un 35 % de apo-A1, 10 % de apo-A2 y 5 % de apo-C.

El núcleo lipídico está constituido por un 25 % de fosfolípidos, 20 % de colesterol esterificado y 5 % de triglicéridos. El papel que juega esta lipoproteína en nuestro organismo es el transporte del colesterol desde los tejidos periféricos, incluyendo la pared arterial, hasta el hígado para su posterior excreción en forma de sales biliares. A este proceso se le denomina transporte reverso del colesterol (TRC). Las moléculas de c-HDL también se encargan de transportar el colesterol a órganos endocrinos para la síntesis de hormonas esteroideas.

Diferentes autores han demostrado que la elevación de los niveles de c-HDL constituye un beneficio para el tratamiento y prevención del desarrollo de una enfermedad cardiovascular. En la tabla 2.6 se muestran los principales estudios que reflejan una asociación inversa entre la concentración de colesterol asociado a c-HDL y riesgo cardiovascular.

Estos estudios ratifican la hipótesis primera de que una baja concentración de c-HDL predice episodios cardiovasculares, presentando los individuos con unos valores de c-HDL menor a 35mg/dl una incidencia 8 veces superior de episodios cardiovasculares que los individuos con c-HDL mayor a 65mg/dl.

La elevación de los niveles de c-HDL supone además, según diversos autores, un beneficio adicional a la reducción de los niveles de c-LDL con estatinas. Se ha establecido gracias a varios estudios observacionales que por cada reducción de 1 mg/dl en los niveles de c-LDL se aumenta en un 2 o 3 % el riesgo de enfermedad cardiovascular. Por contra, cada incremento de 1 mg/dl en los niveles de c-HDL se genera una reducción de un 6 % en el riesgo de muerte coronaria,

Estudio	Población	Métodos	Resultados
Troms Heart Study	6595 varones (20–49 años)	Cribado poblacional seguimiento 2 años	Los valores de c-HDL estaban inversamente correlacionados con RCV. La c-HDL 3 veces superior en predicción de RCV que colesterol no HDL
Framingham Heart Study	1605 pacientes (49–82 años)	16 grupos estratificados según concentraciones de c-HDL y CT seguimiento 12 años	Valores altos de c-HDL asociados con incidencias inferiores de ECV para todos los valores de CT. Incremento de 1 mg/dl asociado al descenso de 2–3% en el RCV
MRFIT (Multiple Risk Factor-Intervention Trial)	5792 varones con FRCV (35–57 años)	Modificación de FRCV frente a no intervención seguimiento 7 años	No hubo cambio en los valores de c-HDL. No diferencias significativas en mortalidad cardiovascular
Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial	1808 varones con hiperlipidemia (30–69 años)	Dieta hipolipemiente + placebo frente a colestiramina seguimiento 7 años	Incremento de c-HDL en ambos grupos en 1 mg/ml llevaba a una reducción de 3,4–4,5% en los eventos cardiovasculares
Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM)	19698 voluntarios (4559 varones analizados, 40–64 años) 8565 varones > 42 años	seguimiento 6 años 4 grupos estratificados por valores de c-HDL y CT, seguidos durante 21 años	Individuos con c-HDL < 35 mg/ml, 4 veces más RCV Mortalidad CV 36% mayor en subgrupos con niveles bajos de c-HDL que en subgrupos con niveles elevados (tras ajustar por edad y FRCV)
Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study	12339 participantes 45–64 años	seguimiento 10 años	Relación inversa entre c-HDL y RCV. Predicción de RCV utilizando c-HDL es superior en mujeres que en varones

Tabla 2.6: Principales estudios epidemiológicos que muestran las concentraciones bajas de c-HDL como factor de riesgo cardiovascular (Fuente: Badimón et al., 2010)

independientemente de los valores de c-LDL (Alfonso y Ariza, 2008). Además se demostró que por cada incremento en 1 mg/dl en los valores de c-HDL se producía una reducción del riesgo cardiovascular del 1,9–2,3 % en los varones y del 3,2 % en las mujeres. Esta relación se mantiene incluso ante valores de c-LDL bajos. Se observó también una reducción de un 21 % del riesgo cardiovascular por cada 5mg/dl de elevación del c-HDL.

Se estudió además una interacción muy importante: cuanto menores eran los valores de c-LDL, mayor era el impacto protector de elevar las concentraciones de c-HDL. Se trata de una observación de importancia capital en un momento como el actual en el que las guías recomiendan valores de c-LDL < 70 mg/dl en pacientes isquémicos o diabéticos.

Otro dato relativo a c-HDL es que en pacientes ancianos mayores de 85 años, los valores bajos de c-HDL y no los elevados de c-LDL eran predictores de enfermedad cardiovascular.

Por otro lado sabemos que para detener la progresión de una placa aterosclerótica son necesarios de forma simultánea tanto unas concentraciones de c-LDL menores a 87,5 mg/dl así como una elevación mayor de 7,5 % en los valores de c-HDL.

Esta relación inversa entre c-HDL colesterol y riesgo cardiovascular adquiere una radical importancia al constatar la enorme prevalencia de las concentraciones bajas de c-HDL colesterol en la población; se trata de la alteración del perfil lipídico más frecuente en la enfermedad cardiovascular prematura (Badimón et al., 2010).

TG

Niveles elevados de TG se han relacionado con la aparición de enfermedad coronaria, tanto en hombres como en mujeres. Los niveles altos de TG normalmente van acompañados de niveles bajos de c-HDL, asociando también esta combinación a la presencia de riesgo de enfermedad coronaria incrementada (Roeters et al., 2002).

El estudio PROCAM (*Prospective Cardiovascular Münster Study*)¹⁵ incluyó a 4849 hombres de mediana edad en los cuales se estudió la incidencia de enfermedad coronaria durante 8 años, en función de los factores de riesgo presentes al comienzo del estudio. Se comprobó que los niveles circulantes de TG fueron un factor de riesgo independiente para la aparición de eventos cardiovasculares, independientemente de los niveles séricos de c-HDL o c-LDL (Assmann et al.,

¹⁵El objetivo principal de este estudio fue la detección de factores de riesgo de cardiopatía coronaria, ictus y otras enfermedades.

1998).

En el *Copenhaguen Male Study*¹⁶, estudio prospectivo que se prolongó durante 8 años, se incluyó a 2906 hombres que no padecían enfermedad cardiovascular. El riesgo de aparición de enfermedad cardíaca isquémica fue un 50 % más alto en aquellos que presentaban unos niveles de TG situados en el tercio medio de los niveles normales de TG y 120 % más alto en aquellos con unos niveles de TG situados en el tercio superior, en comparación con aquellos situados en el tercio más bajo. Estas estimaciones fueron realizadas haciendo un ajuste de los factores de riesgo medidos, como eran la edad, índice de masa corporal, ingesta de alcohol, tabaco, actividad física, hipertensión, diabetes, y niveles de c-HDL y c-LDL (Jeppesen et al., 1998).

Posteriormente, el debate sobre los TG se focalizó en si eran los niveles de TG en ayunas o los niveles posprandiales los que presentaban un mayor riesgo cardiovascular. Los resultados de los diferentes estudios sugirieron que la medida de los niveles de TG en ayunas reflejan de forma más precisa la presencia de lipoproteínas remanentes aterogénicas (Harchaoui et al., 2009). En el *Copenhaguen City Heart Study*¹⁷, que incluyó 19329 hombres con una media de edad por encima de los 26 años, los niveles de TG posprandiales estuvieron asociados con un riesgo incrementado de infarto de miocardio, enfermedad isquémica cardíaca y muerte. Una ampliación de este trabajo realizó el estudio en 33.391 habitantes de Copenhague, Dinamarca (Langsted et al., 2008). Además, datos obtenidos de un estudio prospectivo en 26330 mujeres sanas reveló que la asociación con la enfermedad cardiovascular fue superior para los niveles de TG posprandiales, comparados con medidas de TG en ayunas (Mora et al., 2008).

APO-A1 Y B

La apo-A1 es la mayor apolipoproteína de la molécula de c-HDL. Tanto las partículas aterogénicas como las partículas c-LDL, c-VLDL y los remanentes de partículas ricas en TG contienen una molécula de apo-B. Por tanto, la apo-B da una estimación precisa del número total de partículas aterogénicas (Roeters et al., 2002).

La apo-B es la mayor lipoproteína estructural asociada a las lipoproteínas de c-VLDL, c-LDL y quilomicrones. Su misión fundamental es la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos desde el intestino y el hígado a otros tejidos. La apo-B existe en dos formas distintas:

¹⁶Este estudio identificó los estilos de vida que favorecen la obesidad e investigó cuales son las causas que originan las diferencias sociales con respecto a este factor de riesgo.

¹⁷Estudio epidemiológico prospectivo iniciado en 1976.

apo B-100, componente mayoritario de las c-LDL, sintetizada en el hígado y presente en el plasma como parte de c-VLDL y la apo B-48, componente mayoritario de los quilomicrones y sintetizada en el intestino.

Recientes estudios han demostrado que la determinación de los niveles de apo-A1 y B nos proporcionan una estimación más precisa de aparición de enfermedad cardiovascular aterosclerótica que las determinaciones tradicionales hasta ahora siempre consideradas como los niveles de CT, c-HDL y c-LDL (Acevedo et al., 2012). Debido a que la proporción relativa de los distintos componentes lipídicos y proteicos en las partículas lipoproteicas no es constante por un continuo intercambio de elementos, los individuos con enfermedad coronaria sufren cambios en las concentraciones de apo-A1 y apo-B parecidos a los cambios en la concentración de c-HDL y c-LDL. Así pues, la determinación de los niveles de apolipoproteínas nos proporciona una estimación del número de partículas circulantes y constituye una medida más representativa del riesgo aterogénico real (Prat, 2003).

El ratio apo-B y apo-A1 ha sido asociado con el síndrome metabólico. También se ha relacionado con cambios en la relación entre el grosor de las capas íntima y media de la arteria carótida después de tres años de seguimiento. Existe una fuerte colinealidad en la relación entre apo-B y apo-A y los lípidos aterogénicos (Wallenfeldt et al., 2004).

Por otra parte diversos estudios muestran que los anticuerpos IgG frente a la apo-A1 están incrementados en muchas enfermedades asociadas a un riesgo cardiovascular alto (lupus eritematoso sistémico, síndrome coronario agudo, artritis reumatoide, estenosis carotídea severa, etc.). Los niveles elevados de anticuerpos anti apo-A1 han sido relacionados también con vulnerabilidad de placa aterosclerótica en pacientes con estenosis carotídea severa (Teixeira et al., 2012).

LP(A)

La molécula de LP(A) está formada por una molécula de c-LDL que está unida mediante un puente disulfuro a la apolipoproteína-A y tiene una estructura muy parecida a la del plasminógeno (Roeters et al., 2002).

Los niveles plasmáticos de LP(A) están mediados por el gen LP(A) situado en el cromosoma 6q22-23 teniendo la dieta poca influencia sobre dichos niveles.

El potencial aterotrombótico de esta lipoproteína es conocido: se incorpora a los macrófa-

gos transformándolos en células espumosas con la consiguiente liberación de citocinas. Éstas estimulan la proliferación de células musculares lisas en la pared de las arterias, lo que contribuye a la progresión de la placa de ateroma. Además debido a la similitud que presenta la LP(A) con el plasminógeno, compite con éste por los sitios de unión a la fibrina, favoreciendo en mayor medida la formación de episodios trombóticos (Carbayo, 2011).

Numerosos estudios han demostrado que los niveles de LP(A) elevados son, de forma independiente y lineal, predictivos de una futura enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, Kamstrup et al. (2009) demostró que existe una relación causal entre los niveles elevados de LP(A) y un riesgo incrementado de infarto de miocardio. Un incremento de los niveles de LP(A) por encima de 30 mg/dl se ha asociado de modo independiente con la arteriopatía periférica (Aboyans et al., 2006), con el accidente cerebro-vascular (ACV), excepto en hombres blancos, (Ohira et al., 2006) y con la reestenosis coronaria después de angioplastia y bypass coronario (Pinto y Meco, 2005). Los niveles elevados de esta lipoproteína están asociados a patrones severos de aterosclerosis coronaria en individuos jóvenes (Zorio et al., 2006). Similar efecto ocurre cuando el aumento de los niveles de LP(A) coincide con valores de colesterol transportado en las c-LDL superiores a 120-130 mg/dl (Illingworth, 1999).

Obesidad

La obesidad es un serio problema de salud pública y tiene una alta prevalencia en los países desarrollados. Eleva la mortalidad y disminuye la esperanza de vida y la calidad de vida especialmente en los adultos jóvenes.

Un estudio de Salud Regional llevado a cabo en Castilla y León en el año 2003 encontró que el 35,9 % de la población tenía sobrepeso, porcentaje muy similar a la media nacional, y el 11,7 % eran obesos, valor que se encuentra por debajo de la media nacional.

Conjuntamente con la hipertensión, la diabetes, el tabaquismo y la hiperlipidemia, el exceso de peso se reconoce como un factor que ha contribuido a una prevalencia incrementada de enfermedad vascular isquémica, de forma directa o a través de interacciones con otros factores de riesgo.

García et al. (2001) realizó un estudio transversal de la obesidad en una muestra aleatoria de 4012 personas de edad mayor o igual a 15 años en Castilla y León y estimó la prevalencia de obesidad (índice de masa corporal mayor o igual a 30) y de obesidad abdominal (perímetro

de cintura mayor a 102 cm en varones y mayor a 88 cm en mujeres). Calculó además la relación de ambos tipos de obesidad con otros factores de riesgo cardiovascular estimando que la prevalencia de obesidad era de un 21,7 %, mayor en mujeres (23,2 %) que en varones (20,4 %). También estimó que la prevalencia de obesidad abdominal (36,7 %), era mayor también en mujeres (50,1 %) que en varones (22,8 %). La mayor parte de los factores de riesgo (hipertensión arterial, diabetes e hipercolesterolemia) eran mucho más frecuentes en individuos obesos que en los que presentaban un IMC normal. El riesgo *Score* y *Framingham* a 10 años también fue superior en obesos.

Hipertensión arterial (HTA)

La HTA es la afección crónica más frecuente de la población adulta en el mundo. Se comporta como factor de riesgo para padecer las enfermedades que se encuentran entre las más importantes causas de muerte en los países desarrollados y en la mayor parte de los países en vías de desarrollo como son la cardiopatía isquémica, los ACV, la insuficiencia cardíaca y la enfermedad renal crónica. La participación de la HTA en el desarrollo de estas afecciones se acrecienta notablemente cuando coexiste con otros factores de riesgo cardiovascular como la dislipidemia, el tabaquismo, la obesidad, el sedentarismo o la diabetes mellitus. El papel de la HTA en estas situaciones es de mayor trascendencia cuando no se logra un control óptimo de la afección. Este es un hecho de gran preocupación en la comunidad científica pues tanto en el orden poblacional, como en el individual, alcanzar eficientemente los valores o cifras de presión arterial considerados como normales se dificulta significativamente y a través de los años, se ha hecho más difícil y no satisfactorio en la inmensa mayoría de los países (Medina, 2012).

Actualmente se acepta que un paciente hipertenso diagnosticado como tal, tiene control de la HTA cuando presenta cifras de presión arterial menores de 140 mmHg de presión arterial sistólica e inferiores a 90 mmHg de presión diastólica (Chobanian et al., 2003). Los estudios al respecto se refieren a veces de manera no muy explícita a mediciones ocasionales de la presión arterial, a estudios programados de prevalencia en una comunidad o país con elaborados diseños muestrales y con cifras de presión arterial recogidas en 2 ó 3 mediciones casuales y aceptación de valores promedios de dichas mediciones; algunos de estos estudios se efectúan con equipos automáticos o semiautomáticos de medición de la presión arterial que

a veces tienen notables variaciones entre una y otra medición. Se consideran más efectivas las mediciones por el método auscultatorio, aunque también es cierto que en estos casos, el efecto o fenómeno de la «bata blanca» puede influir en los valores (Pickering et al., 2006). La comunidad científica acepta también que para que los hipertensos con diabetes mellitus o con enfermedad renal crónica tengan controladas las cifras de HTA deben alcanzar valores menores de 130 mmHg de presión arterial sistólica y de 80 mmHg de presión arterial diastólica (Arauz-Pacheco et al., 2002).

Muchos estudios han demostrado que la presión arterial elevada está estrechamente relacionada con un incremento del riesgo cardiovascular e incremento de mortalidad. En una revisión realizada por Mancia et al. (2009) se analizaron los principales estudios realizados en diferentes poblaciones de hipertensos con relación a los beneficios o los riesgos obtenidos según las cifras alcanzadas. De los cinco estudios evaluados, *Oslo Study of treatment of mild hypertension* (OSLO study)¹⁸, *Hypertension detection and follow-up program* (HDFP–Stratum I)¹⁹, *Australian therapeutic trial in mild hypertension* (AUSTRALIAN)²⁰, *Medical research Council trial of treatment of mild hypertension* (MRC–mild)²¹ y *Felodipine event reduction* (FEVER)²², en cuatro se encontró que la presión arterial sistólica se redujo a menos de 140 mm de Hg en el grupo de tratamiento activo y en tres de ellos se observó un efecto beneficioso de esta reducción en la tasa de eventos cardiovasculares. En el estudio FEVER se observó una caída de la presión arterial de 142 mm Hg a 137 mm Hg, demostrando significativos beneficios cardiovasculares.

DM

La DM es una de las enfermedades con mayor impacto socio–sanitario, no sólo por su elevada frecuencia sino sobre todo, por las consecuencias de las complicaciones crónicas que comporta esta enfermedad, el importante papel que desempeña como factor de riesgo de aterosclerosis y de patología cardiovascular (Bosch et al., 2002).

¹⁸Estudio realizado en 1972-1973 en 785 hombres entre 40 y 49 años durante 5 años para evaluar el efecto de la administración de diferentes antihipertensivos sobre la aparición de complicaciones cardiovasculares.

¹⁹Estudio iniciado en 1971 donde se evaluó el efecto de la administración de terapia antihipertensiva sobre la morbilidad y mortalidad cardiovascular.

²⁰Estudio realizado en 3427 hombres y mujeres entre 30 y 69 años con una hipertensión media.

²¹Estudio realizado en 4396 pacientes hipertensos entre 65 y 74 años.

²²Ensayo realizado en 9800 chinos de ambos sexos, entre 50 y 79 años a los que se administró felodipino frente a placebo durante 40 meses y se valoró el efecto de su administración.

El riesgo de mortalidad de un paciente diabético es igual que el de un no diabético que ha sufrido un infarto de miocardio (alrededor de un 20 %) y este riesgo se triplica en aquellos diabéticos que sufren un infarto. Por esto no resulta sorprendente que la expectativa de vida de un paciente al que se le diagnostica de diabetes tipo 2 se reduzca en un 30 %. Además, cuando contraen una patología cardiovascular la mortalidad es mucho mayor en diabéticos que en no diabéticos (Pyorala, 2000). Estos datos han llevado a que diversas instituciones científicas como la *American Heart Association*, hayan declarado la diabetes como uno de los principales factores de riesgo cardiovascular (Grundy et al., 1999).

Por otro lado los pacientes diabéticos tienen una mayor probabilidad de presentar un síndrome coronario agudo o incluso muerte súbita de forma silente. La diabetes aumenta también el riesgo de aterosclerosis carotídea; alrededor del 13 % de los pacientes diabéticos de más de 65 años ha sufrido un accidente cardiovascular. La mortalidad por accidente cerebrovascular es casi el triple entre los pacientes diabéticos (Bosch et al., 2002).

En el caso de individuos genéticamente predispuestos, la obesidad y el sedentarismo conducen a la resistencia a la insulina, estado que precede a la diabetes tipo 2 y que suele acompañarse de otros factores de riesgo cardiovascular, como la dislipidemia, la hipertensión y factores protrombóticos (Gray et al., 1998). La frecuente asociación de estos factores de riesgo en un mismo individuo es lo que se denomina síndrome metabólico. La evidencia clínica de resistencia a la insulina incluye la obesidad abdominal, hipertensión arterial leve, elevación ligera de los triglicéridos (150–250 mg/dl), disminución del c-HDL, ligera elevación del c-LDL (130–159 mg/dl) y, en algunos casos, hiperglucemia leve (110–126 mg/dl). El reconocimiento de éste síndrome es fundamental para la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular, que constituye la principal causa de muerte en los pacientes diabéticos.

Pintó et al. (2007) realizaron un estudio con el objetivo de evaluar el patrón y los factores predictivos de enfermedad cardiovascular en un grupo de pacientes ambulatorios con diabetes tipo 2 e hipercolesterolemia en el sur de Europa. En este estudio prospectivo, abierto y observacional se incluyó a pacientes de ambos sexos (62 ± 8 años) con diabetes tipo 2 e hipercolesterolemia. Se registraron las manifestaciones clínicas de ECV incluidos la angina, el infarto de miocardio, el ictus y la enfermedad arterial periférica; la glucosa y la hemoglobina glucosilada (HBA_{1C}). Los factores de riesgo cardiovascular se evaluaron cada 4 meses durante un período de seguimiento de 2 años, que fue completado por 838 pacientes. En total, 81

pacientes (9,6 %) presentaron un episodio de ECV y 9 fallecieron durante el seguimiento. La ECV fue más frecuente en los pacientes con historia previa de enfermedad isquémica que en los pacientes sin ella. La angina o el infarto de miocardio previos fueron los predictores más potentes del riesgo cardiovascular seguidos del ictus previo, el exceso de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, la arteriopatía periférica, el exceso de HBA_{1c} y la obesidad. En este estudio se concluyó que la incidencia de ECV en este grupo de pacientes con diabetes tipo 2 e hipercolesterolemia fue elevada. El hecho de haber presentado un episodio isquémico previo y el exceso de c-LDL durante el seguimiento son los predictores más potentes del riesgo de presentar futuros episodios de ECV.

Por otra parte, la influencia de la diabetes sobre la aparición de episodios cardiovasculares es mayor en mujeres que en hombres (Lee et al., 2012).

Noto et al. (2009) realizaron el seguimiento durante 15 años de un grupo de pacientes de 65 a 85 años con diabetes mellitus e hipertensión arterial evaluando la relación de estos factores de riesgo con la aparición de episodios cardiovasculares. Se encontró que la hipertensión y la diabetes estuvieron asociadas de forma independiente con la aparición de eventos cardiovasculares. Los pacientes con diabetes mellitus e hipertensión mostraron una mayor proporción de eventos cardiovasculares en comparación con los que sólo presentaban diabetes, o sólo HTA.

Fibrinógeno (FG)

El fibrinógeno (FG) es la proteína de la coagulación más abundante en la circulación. Es precursor de la fibrina, principal componente del trombo. La concentración plasmática de FG se incrementa durante la inflamación por lo que es considerado uno de los indicadores del estado inflamatorio.

En los últimos años el FG ha sido considerado un factor de riesgo cardiovascular. Numerosos estudios lo han relacionado tanto con la enfermedad arterial coronaria (EAC) como con otras formas de enfermedad aterotrombótica (EAT) incluyendo enfermedad vascular cerebral y enfermedad arterial periférica. El FG se correlaciona con la progresión de las placas ateroscleróticas carotídeas y es predictivo de la gravedad de la aterosclerosis de la aorta torácica y de las placas silenciosas.

El FG proporciona un riesgo adicional a los tres factores convencionales de riesgo cardiovascular más importantes (colesterol, hipertensión y tabaquismo) y es el factor predictivo de

mayor peso de mortalidad por causas cardiovasculares, aún más que la hipertensión arterial y el colesterol.

Desde el punto de vista fisiopatológico se pueden identificar dos etapas en la participación del FG en la enfermedad cardiovascular. En la primera etapa de formación de la placa de ateroma el FG participa activamente en el proceso en la agregación plaquetaria al unirse a la glucoproteína IIB/IIIA para formar el puente de unión entre varias plaquetas. Se ha observado que los individuos con concentraciones elevadas de FG tienen mayor agregabilidad plaquetaria inducida por adenosín difosfato (ADP); ésta depende a su vez de variantes polimórficas de la glucoproteína IIIA.

La segunda etapa ocurre durante el desarrollo de la aterosclerosis. El FG se deposita en la pared arterial, sobre todo en los sitios de formación de una placa aterosclerótica donde es convertido en fibrina; ésta se acumula, al igual que los productos de desintegración de la fibrina, actuando como estímulo para la migración y proliferación de células de músculo liso; con ello, el FG contribuye al crecimiento de la lesión. Existe una relación directa entre la concentración de FG y la viscosidad plasmática con la gravedad de enfermedad arterial coronaria y con la disminución del flujo sanguíneo, particularmente en los sitios de estenosis vascular como los que produce la placa aterosclerótica. La viscosidad plasmática también se incrementa por la agregación eritrocítica dependiente del FG. Los niveles plasmáticos de FG se han relacionado con una mayor tendencia a formar fibrina en respuesta a la trombina y a generar trombos de mayor tamaño, con una estructura que los hace resistentes a la acción fibrinolítica. En los siguientes días a un infarto del miocardio el FG se incrementa como parte de la respuesta inflamatoria a la necrosis tisular y podría estar relacionado con los eventos de retrombosis y re-infarto (Izaguirre y Zaldívar, 2003).

Meade et al. (1980) realizaron un estudio en 1510 individuos mayores de 40 años de edad. El 2 % de los individuos que murieron por IAM en un período de 6 años, tenían el FG incrementado en relación a los que no tenían enfermedad arterial coronaria. Más tarde los mismos autores comunicaron el seguimiento entre 7 y 13 años de 1511 hombres de raza blanca donde confirmaron que el FG es un factor de riesgo para EAT con mayor valor predictivo que el colesterol; niveles elevados de FG se acompañaron de un 84 % de riesgo de sufrir IAM en los siguientes 5 años independientemente de la edad (Meade et al., 1986).

De esos hallazgos se derivaron más de 30 estudios prospectivos que han relacionado al

FG con el riesgo de sufrir enfermedad arterial coronaria. Un meta-análisis publicado en 1993 reveló un riesgo relativo de eventos cardiovasculares de 2.45 (intervalo de confianza o IC 95 %, 2.05 a 2.93) en el tercil superior de la concentración de FG, comparado con el tercil inferior de dicha concentración (Ernst y Resch, 1993). Además se descubrió que los niveles de FG en particular se incrementan más en la mujer en relación a la edad (Roeters et al., 2002), comprobándose también que en individuos de edad avanzada, la concentración de FG tiene una relación indirecta con la actividad física (Goya et al., 2002). Aunque el tabaquismo aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular, el incremento del riesgo por el FG es independiente del que proporciona el tabaquismo, que eleva los valores de FG en proporción directa al número de cigarrillos por día (Kannel et al., 1987). También existe una relación directa entre los niveles de CT y de FG. La concentración elevada de LP(A) asociada al aumento del FG plasmático incrementa el riesgo cardiovascular a 2.5 (IC 95 %, 1.2 a 5) (Cantin et al., 2002). Por el contrario, el consumo moderado de alcohol los reduce.

Debido a que no existe una estandarización universal para la determinación del FG, el valor predictivo que pueda tener la cuantificación aislada del FG es limitado y sugiere que la determinación rutinaria de FG en individuos sanos no es útil para evaluar el riesgo individual de trombosis (Chandler et al., 2002).

Hiperhomocisteinemia

En 1969, Mc Cully fue el primero en sugerir que la homocisteína podría estar implicada en la patofisiología del proceso aterosclerótico. Desde entonces numerosos estudios observacionales han asociado la hiperhomocisteinemia con el riesgo cardiovascular y han considerado a la homocisteína como un factor de riesgo cardiovascular de forma independiente (Ntaios et al., 2009).

Elevaciones moderadas de homocisteína en sangre pueden actuar como un factor de riesgo de aparición de aterosclerosis en la población general (McCully y Wilson, 1975). La concentración normal de homocisteína en sangre es de 5 a 15 $\mu\text{mol/l}$. Concentraciones superiores a 15 $\mu\text{mol/l}$ se consideran como hiperhomocisteinemia y se clasifican de la siguiente manera: leve: 15-30 $\mu\text{mol/l}$; moderada: 30-100 $\mu\text{mol/l}$; grave: > 100 $\mu\text{mol/l}$ (Trabetti, 2008).

La incidencia de hiperhomocisteinemia varía entre las poblaciones y depende de la edad, sexo, estilo de vida (tabaco, alcohol, consumo de café, dieta, uso de suplementos vitamínicos

y de minerales) y variabilidad genética (Bree et al., 2002) .

Factores genéticos - Historia familiar

El comportamiento hereditario de la enfermedad coronaria ha sido ampliamente demostrado por muchos autores. Uno de los múltiples estudios sobre este tema investigó los genes implicados en la síntesis de FG e IL-6. La molécula de FG está formada por tres pares de cadenas (α , β , γ), unidas por puentes de disulfuro. Los tres genes que codifican su síntesis se encuentran muy cercanos uno de otro en el cromosoma 4 y algunos estudios sugieren que la regulación en la síntesis de las tres cadenas depende del gen de la cadena beta. El FG tiene una variación condicionada genéticamente; de los cuatro haplotipos comunes de la cadena β , el polimorfismo genético del alelo $455G > A$ se ha asociado con mayores niveles plasmáticos de FG. Los individuos con este alelo podrían tener hasta un 40 % más de riesgo para desarrollar un evento trombótico. También se ha especulado que algunos individuos tendrían un genotipo que les haría responder con mayor facilidad a los estímulos inflamatorios externos que les colocaría en un mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria. Por otra parte la IL-6 regula varios de los componentes de la respuesta inflamatoria y el polimorfismo del alelo $174G > C$ del gen que codifica su síntesis se ha relacionado con un riesgo particular de trombosis y enfermedad arterial coronaria. Ambos alelos del FG y de IL-6 estarían involucrados con los niveles elevados de FG en el plasma y por lo tanto con el mayor riesgo de sufrir enfermedad arterial coronaria. En la población europea se ha estimado que hasta el 2 % de los individuos tendrían esta combinación patogénica (Izaguirre y Zaldívar, 2003).

El estudio REGRESS consistió en la evaluación de la hipótesis de que la interacción entre el polimorfismo genético de PLA1A2²³ y los niveles en sangre de FG que existe en el proceso de agregación plaquetaria tiene influencia en el riesgo de aparición de eventos cardiovasculares. El estudio de esta hipótesis realizada en un grupo de pacientes con enfermedad coronaria arterial sintomática llevó a la observación de una interacción estadísticamente significativa entre una variante genética del receptor del FG para plaquetas y los niveles de FG en la determinación del riesgo de aparición de eventos cardiovasculares. Por tanto este genotipo puede tener un papel muy importante como factor de riesgo genético en la aparición de eventos de tipo cardiovascular (Boekholdt et al., 2004).

²³un componente proteico del receptor para plaquetas del FG

Otros estudios de genoma completo han demostrado asociación entre distintos polimorfismos de nucleótidos (SNP)²⁴ y enfermedad coronaria e IAM en diversas regiones cromosómicas: *1p13.1*, *2q36.3*, *9p21* y *10q11.21*. Los SNP de *9p21* constituyen un haplotipo de riesgo; las asociaciones detectadas en esta región han sido replicadas en diversas poblaciones y se ha encontrado una relación con afecciones como aneurisma aórtico abdominal e intracraneal, rigidez arterial y calcio coronario. El haplotipo de riesgo de *9p21* está localizado en una zona sin notación génica cercana a *CDKN2A* y *CDKN2B*, actuando como genes supresores de tumores y que codifican a inhibidores de las kinasas que intervienen en el ciclo celular. Diferentes estudios de expresión génica han encontrado que la expresión de niveles de *CDKN2A* y *CDKN2B* están corregulados y asociados con el haplotipo de riesgo así como con la severidad aterosclerótica, lo que apunta a la relevancia de esta región en la enfermedad coronaria. En las restantes regiones los SNP asociados se encuentran en genes con funciones conocidas en la enfermedad aterosclerótica (Companioni et al., 2011).

La cardiopatía isquémica (CI) tiene un componente genético significativo y en los últimos años se han identificado variantes genéticas asociadas con ella. Se realizó un estudio para evaluar la magnitud de la asociación entre una puntuación individual de riesgo genético, basada en el número de alelos de riesgo acumulados en un conjunto de variantes genéticas de interés y la presencia de CI. La conclusión de este estudio fue que las nueve variantes genéticas asociadas con CI independientemente de los factores de riesgo cardiovascular permiten crear una puntuación de riesgo genético de CI que se asocia con la presencia de la enfermedad (Lluis-Ganella et al., 2010).

Infecciones

Aunque la presencia de infecciones constituyó una de las primeras hipótesis que intentó explicar el mecanismo de producción de la aterosclerosis a finales del siglo XIX rápidamente se abandonó por completo debido al escepticismo de las principales corrientes de la medicina de aquel entonces. La realización de nuevos descubrimientos y la incapacidad de los factores más conocidos para poder explicar la incidencia de la enfermedad hicieron renacer el interés en la infección desde el último cuarto del siglo pasado hasta convertirla en verdadera actualidad.

La infección favorece el riesgo de enfermedad cardiovascular principalmente por haberse

²⁴ variaciones de un único nucleótido entre dos secuencias de nucleótidos.

relacionado con el proceso arteriosclerótico de los vasos sanguíneos (entre ellos, las arterias coronarias) produciendo infarto agudo de miocardio y por desencadenar alteraciones en la conducción de los impulsos nerviosos en el corazón que provocan arritmias como la fibrilación auricular y ventricular. También mediante la infección de los tejidos del corazón con afectación del músculo cardíaco (miocarditis), de las válvulas (endocarditis) y de la cubierta que reviste el corazón (pericarditis). Además se ha relacionado la infección con la reestenosis tras procedimientos coronarios, como la angioplastia, y con la arteriosclerosis acelerada tras un trasplante cardíaco.

Los microorganismos relacionados con el riesgo cardiovascular son: *Chlamydomphila pneumoniae*, citomegalovirus, *Helicobacter pylori*, virus del herpes simple, virus de la hepatitis A, B y C y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), microorganismos productores de infecciones periodontales y microorganismos productores de infecciones agudas sistémicas (Farré y Miguel, 2009).

Inflamación

La proteína C reactiva (CRP) es una proteína homopentamérica de fase aguda producida en el hígado que se une de forma específica a la fosforilcolina mediante un enlace de tipo calcio-dependiente. Sus niveles se incrementan de forma drástica durante los procesos inflamatorios. Este incremento de CRP se debe al aumento de la concentración plasmática de IL-6 producida de forma predominante por macrófagos y adipocitos.

Actualmente se considera a CRP como un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular además de ser un marcador prototipo de una infección subyacente. Los individuos con altos niveles de CRP están más predispuestos a desarrollar un ataque cardíaco, un infarto miocárdico y una enfermedad vascular periférica significativa. Un nivel de CRP por encima de 2,4 mg/L, está asociado a un doble riesgo de evento coronario comparado con niveles de CRP por debajo de 1 mg/l (Seo, 2012).

Young y Woodside (2001) evaluaron los cambios en los niveles de CRP y de algunos factores de riesgo cardiovascular después de un año de intervenciones en la dieta y en la actividad física para investigar si las modificaciones en los niveles de CRP ocurrían a la vez que los cambios en otros factores de riesgo cardiovascular o si éstos se producían de forma independiente.

El estudio se realizó en 143 hombres y 133 mujeres con dislipemia que fueron divididos

en varios grupos: sólo actividad física, sólo dieta pobre en grasas, dieta más ejercicio físico y control. Se midieron los siguientes parámetros sanguíneos: CRP, c-HDL, c-LDL, niveles de glucosa e insulina en ayunas y a las 2 horas de haber ingerido alimento además del perímetro de la cintura y la presión arterial. Estas mediciones se realizaron al comienzo del estudio y posteriormente. La conclusión del estudio fue que la modificación de la dieta y de la actividad física induce cambios en los niveles de CRP de forma independiente a los factores de riesgo cardiovascular tradicionales en personas con dislipemia.

Li y Fang (2004) también incluyeron a la CRP como un factor de riesgo cardiovascular independiente en una gran variedad de enfermedades cardiovasculares, especialmente en el síndrome coronario inestable. También indican que los tratamientos que reducen los niveles de CRP pueden ser beneficiosos para la prevención primaria y secundaria de la enfermedad cardiovascular. El tratamiento con una dosis única a dosis elevada o una dosis común durante un período corto de tiempo de simvastatina puede reducir rápidamente los niveles de CRP.

Factores psicosociales

Los factores psicosociales, englobando los factores socioeconómicos y sociales, han sido relacionados con la aparición de enfermedad cardiovascular tanto en hombres como en mujeres.

Henderson et al. (2013) investigaron la asociación entre el estrés psicosocial y el riesgo de mortalidad por ataque cardíaco en ancianos. Se analizó el stress que aparecía en pacientes de 65 años en adelante ($n = 4120$ para mortalidad por infarto y $n = 2649$ para acontecimiento cardíaco). Se midió la aparición de síntomas de tipo depresivo, stress, síntomas neuróticos y poca satisfacción con el tipo de vida. El proceso de investigación se realizó durante 6 años. Se identificaron 151 muertes por infarto y 452 acontecimientos cardíacos. La conclusión de este estudio fue que los niveles elevados de estrés psicosocial están relacionados con un exceso de riesgo ataques cardíacos con mortalidad o sin ella.

Estrógenos

Los estrógenos tienen un papel muy importante en la enfermedad cardiovascular en la mujer. La tasa de mortalidad en mujeres por enfermedad cardiovascular aumenta en aquellas que se encuentran en edad menopáusica cuando los niveles de estrógenos se encuentran disminuídos. Las vías por las que los estrógenos pueden actuar en la enfermedad cardiovas-

cular son las siguientes: tienen efecto sobre la coagulación, efectos endoteliales, citokinas y moléculas de adhesión. También presentan otros efectos sobre el perfil lipídico, resistencia a la insulina, antagonistas del calcio y sobre la distribución de la grasa corporal. Por todo ello se ha propuesto la administración de los estrógenos como terapia hormonal en mujeres en edad postmenopáusica (Baker et al., 2003).

Saltiki et al. (2006) estudiaron cuáles son los factores predisponentes para la aparición de enfermedad coronaria arterial en mujeres. La severidad de la enfermedad coronaria arterial se estudió en función del número de arterias que presentaban una estenosis severa y por la presencia de angina e infartos de miocardio. El estudio se realizó en 108 mujeres mediante angiografía coronaria. Se registró la función reproductora. El tiempo desde la aparición de menopausia (TSM) fue significativamente más largo en aquellas mujeres que habían sufrido angina e infartos de miocardio en comparación con aquellas que no lo habían sufrido. La edad de aparición de menopausia fue más temprana en aquellas mujeres que ya habían sufrido dos infartos de miocardio comparado con aquellas que habían sufrido uno o ninguno. La duración total del ciclo menstrual estaba inversamente relacionado con el número de infartos de miocardio. Por tanto, la duración de la exposición total a estrógenos actúa como un factor protector de forma independiente frente a la aparición de infartos de miocardio en mujeres postmenopáusicas.

2.4.3. Fisiopatología de la aterosclerosis

Los orígenes de la hipótesis de la oxidación de las moléculas de c-LDL en la génesis de la aterosclerosis fueron dados por Brown y Goldstein. Estos científicos fueron los primeros en proponer que las moléculas de c-LDL debían ser oxidadas para que fuesen internalizadas en los macrófagos. Afirmaban que a partir de éstos se generaban las células espumosas y éstas a su vez daban origen a las estrías grasas, que se forman en las arterias y constituyen el paso inicial del proceso de formación de la placa aterosclerótica.

De estos primeros postulados surge la hipótesis de que «la inhibición de la peroxidación lipídica de las c-LDL debe reducir o retardar la aterosclerosis y repercutir clínicamente en una reducción de los eventos clínicos asociados a ella» (Steinberg et al., 1989).

Desde hace algunos años, gran cantidad de evidencias experimentales se han acumulado atribuyendo a los radicales libres y especialmente a la peroxidación lipídica un papel prepon-

derante en la patogénesis de la aterosclerosis debido a que las modificaciones estructurales que experimentan las moléculas de c-LDL tras la acción oxidante de los radicales libres pueden incrementar marcadamente sus características aterogénicas (Steinberg, 1993).

Los radicales libres son especies químicas que tienen en su orbital externo un electrón no apareado, lo que les confiere una elevada reactividad. De esta forma los radicales pueden oxidar y alterar moléculas biológicas esenciales tales como ácidos grasos poliinsaturados, DNA, proteínas y carbohidratos produciendo un daño en el funcionamiento celular que conduce a la muerte. Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presentes en las moléculas de c-LDL son especialmente sensibles a la oxidación (Llorente y Badimon, 1998).

Diferentes mecanismos podrían conducir a la oxidación de las moléculas de c-LDL. Uno de ellos sería por medio de la enzima mieloperoxidasa que se expresa en los macrófagos presentes en las lesiones ateroscleróticas. Otro sería la glicosilación, ya que la glucosa promovería la oxidación acelerada de las c-LDL (Griffith et al., 1988). Diversos estudios han sugerido que la oxidación enzimática de las c-LDL puede producirse in vivo por su interacción con la pared arterial (Hurt-Camejo et al., 1992), células de la sangre (Watson et al., 1999), constituyentes plasmáticos (Guy et al., 1999) y componentes de la matriz de la pared arterial (Takahashi et al., 2005). Éstos pueden a través de diferentes enzimas hidrolizar los ésteres de colesterol, fosfoglicéridos y triacilglicéridos dando lugar a nuevos productos. También la presencia de lipoxigenasas expresadas en los macrófagos puede conducir a la formación de hidroperóxidos a partir de los ácidos grasos de las c-LDL, conduciendo a su oxidación. Por otra parte la presencia de colesterol oxidasas plasmáticas pueden generar c-LDL enriquecidas con productos del colesterol oxidado. El grado de oxidación de las c-LDL resultaría del balance entre las propiedades oxidantes y las antioxidantes de la pared arterial.

Las c-LDL oxidadas son captadas con mayor facilidad por los macrófagos con formación de las células espumosas y necrosis. Esta captación da lugar al enriquecimiento de los macrófagos en ésteres de colesterol y a la formación de células espumosas. Se conoce la existencia de distintas etapas en el proceso de oxidación de las c-LDL en las que se genera una forma intermedia, biológicamente activa, constituida por una pequeña fracción de fosfoglicéridos oxidados que se conoce con el nombre de c-LDL mínimamente oxidada (MM-LDL). La oxidación de las MM-LDL hasta una forma reconocida por los receptores atrapadores (*scavenger*) de los macrófagos es un paso regulador de la formación de células espumosas (Witztum y Steinberg,

1991).

Las células del endotelio vascular son activadas por las moléculas de c-LDL oxidadas generando un incremento de la permeabilidad vascular y favoreciendo la infiltración de c-LDL hacia el espacio subendotelial de la pared vascular. Como consecuencia en estas regiones se incrementa la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas atrayentes que favorecen la reunión de células inflamatorias. Las c-LDL oxidadas tienen un elevado potencial aterogénico ya que al tener bloqueados residuos de lisina y arginina presentan una densidad de carga positiva menor que las c-LDL nativas por lo que ya no son reconocidas por el receptor apo-B100/E mientras que sí lo son por el receptor *scavenger* de los macrófagos y células musculares lisas de la pared vascular. Al no estar regulado, este receptor permite a las células cargarse indefinidamente de colesterol hasta transformarse en células espumosas.

Los monocitos que penetran la pared arterial son capaces de diferenciarse a macrófagos, un tipo celular que expresa receptores *scavenger* que les permiten captar las c-LDL oxidadas y enriquecerse de material lipídico. La acumulación de lípidos en estos macrófagos provocará la formación de las células espumosas, que son la base de la estría grasa típica de la lesión aterosclerótica. El factor de transcripción nuclear NF- κ B²⁵ regula la expresión de muchos de los genes inflamatorios relacionados con este proceso aterogénico incluyendo las moléculas de adhesión, las citocinas y las quimiocinas. La actividad de este factor de transcripción es inducida por múltiples estímulos incluyendo las mismas citocinas proinflamatorias²⁶.

Las c-LDL oxidadas presentan un conjunto de propiedades citotóxicas y quimiotácticas para el sistema monocito-macrófago que contribuye a aumentar su carácter aterogénico. La implicación de las quimiocinas en el desarrollo de la aterosclerosis es cada vez más reconocida. Estas quimiocinas son proteínas de pequeño tamaño, solubles y que son secretadas por múltiples tipos celulares cuya característica principal es la capacidad de inducir la quimiotaxis de distintas células diana, principalmente leucocitos circulantes. Muchos estudios describen un aumento de la expresión y secreción de quimiocinas en las lesiones ateroscleróticas, como por ejemplo es el caso de la interleucina-8 (IL-8), la proteína quimioatrayente de monocitos (MPC-1) y diversas quimiocinas de tipo CXC (también conocidas como quimiocinas de tipo α) o CC (quimiocinas γ). De entre estas últimas destaca la quimiocina CCL-20, también conocida

²⁵factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas, complejo proteico que controla la transcripción del ADN.

²⁶por ejemplo, TNF- α , la interleucina-1 (IL-1) y las c-LDL oxidadas

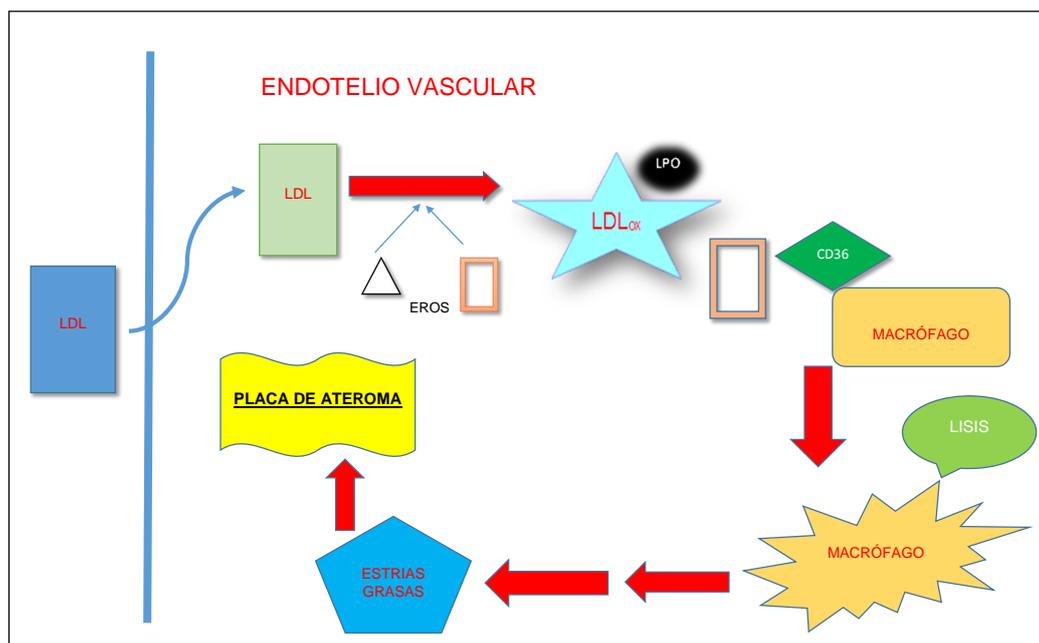


Figura 2.8: Esquema de los pasos iniciales del proceso de formación de la placa de ateroma (Fuente: Guerra, 2007)

como proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-3), que fue descubierta en 1997 y que se expresa mayoritariamente en macrófagos, células dendríticas, linfocitos y granulocitos (Palomer, 2012).

En la figura 2.8 se muestran los pasos iniciales en el proceso de formación de la placa de ateroma.

El daño oxidativo que se produce por el desequilibrio entre fenómenos antioxidantes y pro-oxidantes parece crucial en el origen de la aterosclerosis y esto aumenta la posibilidad que los antioxidantes como la vitamina C, β -caroteno y en especial, el α -tocoferol (vitamina E) puedan prevenir o retardar el desarrollo de esta enfermedad (Oré et al., 2001).

2.4.4. Manifestaciones clínicas

Síndrome coronario agudo (SCA)

Hace referencia al grupo de síntomas atribuidos a la obstrucción de las arterias coronarias. El síntoma más común que indica diagnóstico de SCA es dolor en el pecho, generalmente radiando hacia el brazo izquierdo o el ángulo de la mandíbula, de tipo presión, y asociado con náusea y sudoración. El síndrome coronario agudo generalmente ocurre como resultado de

uno de estos tres problemas: IAM con intervalo ST²⁷ elevado en el electrocardiograma (30 %), IAM sin ST elevado (25 %), o angina inestable (38 %) (Torres y Moayedi, 2007).

Eventos cerebrovasculares

Un accidente cerebrovascular, ictus, apoplejía, derrame cerebral, golpe o ictus apoplético, ataque cerebrovascular o ataque cerebral es la pérdida brusca de funciones cerebrales causada por una alteración vascular, ya sea por interrupción del flujo sanguíneo o por hemorragia. Puede causar parálisis. Se trata de un episodio agudo y afecta a las funciones del sistema nervioso central.

Enfermedad arterial periférica

Ocurre cuando existe un estrechamiento de los vasos sanguíneos fuera del corazón debido a la presencia de placa aterosclerótica en las paredes de las arterias que abastecen la sangre a los brazos y las piernas. La placa hace que las arterias se estrechen o se obstruyan. Eso puede disminuir o interrumpir el flujo sanguíneo generalmente hacia las piernas, provocando dolor o entumecimiento. Cuando la obstrucción del flujo sanguíneo es lo suficientemente grave puede causar la muerte de los tejidos. Si estos cuadros no se tratan puede ser necesario tener que amputar el pie o la pierna (Badimon y Vilahur, 2013).

IAM

Conocido en el lenguaje coloquial como ataque al corazón, ataque cardíaco o infarto, hace referencia a un riego sanguíneo insuficiente, con daño tisular, en una parte del corazón producido por una obstrucción en una de las arterias coronarias, frecuentemente por ruptura de una placa de ateroma vulnerable. La isquemia o suministro deficiente de oxígeno que resulta de tal obstrucción produce la angina de pecho, que si se recanaliza precozmente no produce muerte del tejido cardíaco mientras que si se mantiene esta anoxia se produce la lesión del miocardio y finalmente la necrosis, es decir, el infarto. El infarto de miocardio es la principal causa de muerte de hombres y mujeres en todo el mundo. La facilidad de producir arritmias, fundamentalmente la fibrilación ventricular, es la causa más frecuente de muerte en el infarto

²⁷período de tiempo que transcurre entre el inicio de la onda S y la finalización de la onda T en un electrocardiograma.

agudo de miocardio en los primeros minutos.

El pronóstico vital de un paciente con infarto depende de la extensión del mismo (es decir, la cantidad de músculo cardíaco perdido como consecuencia de la falta de irrigación sanguínea) y la rapidez de la atención recibida.

Aneurisma aórtico

Es una dilatación localizada que produce una debilidad en la pared de la arteria. En un 90 % de las ocasiones se debe a cambios degenerativos ateroscleróticos que se manifiestan en un importante adelgazamiento de la capa muscular media. En el resto de los casos tiene su explicación en defectos en la construcción proteica de la pared aórtica, en traumatismos, infecciones, necrosis quísticas de la media, arteritis, conectivopatías y disecciones.

Estenosis arterial renal (RAS)

La estenosis de la arteria renal (RAS) consiste en un estrechamiento de uno o de ambos vasos sanguíneos (las arterias renales) que llevan la sangre a cada riñón. Los riñones ayudan a regular la presión sanguínea. Cuando una arteria renal se estrecha, los riñones trabajan con más esfuerzo. La RAS, que puede empeorar con el transcurso del tiempo, a menudo ocasiona aumento de la presión arterial y daño a los riñones. Casi siempre (9 de cada 10 casos) el estrechamiento es causado por la formación de placa de ateroma. Con el tiempo la placa acumulada causa obstrucción de las arterias renales.

Enfermedad arterial coronaria (EAC)

La EAC ocurre cuando las arterias que suministran la sangre al músculo cardíaco se endurecen y se estrechan. A medida que la placa de ateroma avanza fluye menos sangre a través de las arterias. Como consecuencia el músculo cardíaco no puede recibir la sangre o el oxígeno que necesita. Eso puede conducir a dolor en el pecho (angina) o a un infarto. La mayoría de los infartos ocurren cuando un coágulo súbitamente interrumpe el suministro de sangre al corazón causando un daño cardíaco permanente.

Con el tiempo la EAC también puede debilitar el músculo cardíaco y contribuir a la pre-

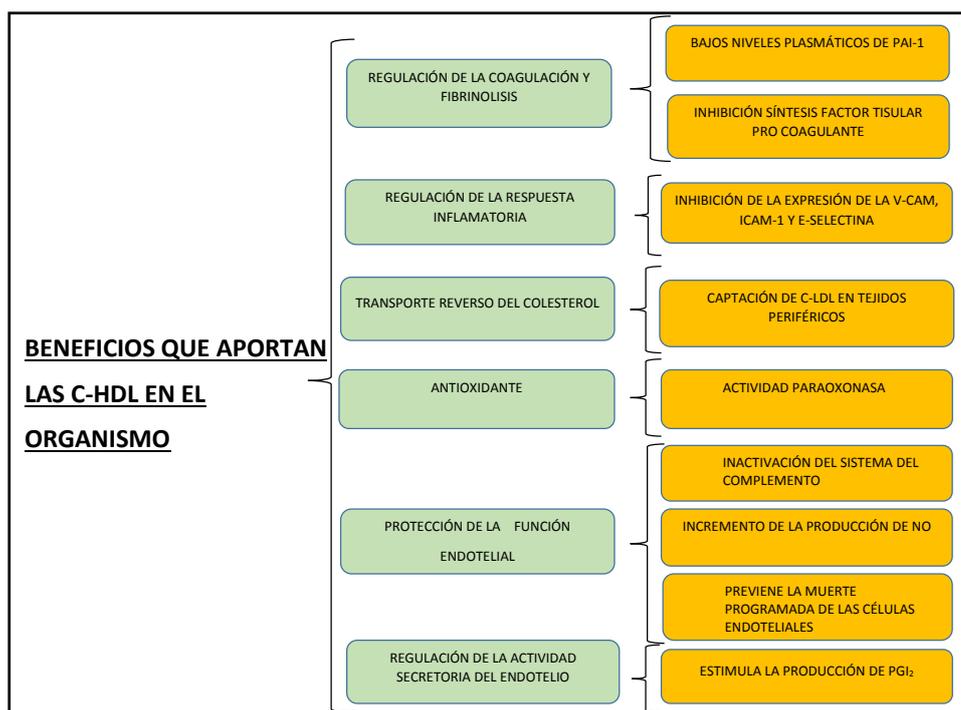


Figura 2.9: Principales efectos ateroprotectores del c-HDL (Fuente: Escola Gil et al. 2014; Rye y Barter 2014; Rader 2014)

sencia de insuficiencia cardíaca ²⁸ y arritmias ²⁹ (Klingenberg et al., 2012).

2.4.5. Tratamiento

Estrategias para elevar las concentraciones de c-HDL

Los efectos beneficiosos del c-HDL no solamente están mediados por el transporte reverso del colesterol, sino también por sus efectos antioxidantes, antiagregantes, antiinflamatorios y de mejora de la función endotelial (Mineo et al., 2006). En la figura 2.9 se muestran las principales funciones que realizan las c-HDL como moléculas antiaterogénicas y los mecanismos en los que intervienen para cumplir estas funciones³⁰³¹³².

²⁸Se produce cuando el corazón no puede bombear la sangre adecuadamente al resto del cuerpo.

²⁹Se trata de cambios en el ritmo normal del corazón.

³⁰El factor tisular procoagulante se libera con el daño celular; participa junto con el factor VIIa en la activación del factor X por la vía extrínseca.

³¹La E-selectina es una molécula liberada en el proceso inflamatorio que interviene en el proceso de adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular. La unión firme y migración transendotelial de estos leucocitos está mediada por la interacción entre la V-CAM (molécula de citoadhesión vascular) y la ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1), además de otras moléculas antigénicas.

³²La PGI₂ o prostaciclina es un potente vasodilatador e inhibe la agregación plaquetaria.

Medidas no farmacológicas

1. El ejercicio aeróbico frecuente aumenta el c-HDL aproximadamente un 5 %. Este efecto es precoz (aparece en menos de 2 meses) y parece ligado a la frecuencia, la intensidad y la duración del ejercicio.
2. Abandono del hábito tabáquico: incrementa los valores de c-HDL en 5 mg/dl, incluso en plazos tan cortos como 2 semanas después del cese.
3. Pérdida de peso: en pacientes obesos la pérdida de cada kilogramo de peso se asocia a un incremento del c-HDL de 0,35 mg/dl.
4. El consumo de cantidades moderadas de alcohol (30–40 g diarios) incrementa las concentraciones de c-HDL un 5–15 % y disminuye el riesgo cardiovascular.
5. Factores dietéticos: las dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (pescado azul, frutos secos, aceite de oliva) elevan los valores de c-HDL y reducen el riesgo cardiovascular. El consumo de ácidos grasos saturados reduce el potencial antiinflamatorio del c-HDL, mientras que los ácidos poliinsaturados mejoran dicho potencial.

En la tabla 2.7 se muestran las principales intervenciones a realizar para incrementar los niveles de c-HDL.

Tratamiento farmacológico

El tratamiento óptimo para la aterosclerosis es reducir las concentraciones de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) o subir las de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) desplazando el peso de la balanza hacia la disminución de la lesión aterosclerótica. Por ello el mejor tratamiento farmacológico contra la enfermedad aterosclerótica es la combinación de ambas estrategias, como se muestra en la figura 2.10.

Existen diferentes tratamientos farmacológicos para incrementar los niveles de c-HDL, cuyo resumen se encuentra en la tabla 2.8.

La fracción de c-HDL en el plasma humano es muy heterogénea y consiste en diversas subpoblaciones de partículas que varían en tamaño, densidad y composición. Actualmente no

MEDIDAS NO FARMACOLÓGICAS	PORCENTAJE DE INCREMENTO DE C-HDL (%)	MECANISMO DE ACCIÓN
Ejercicio aeróbico	5-10	Incremento de los niveles de pre-β-HDL, LPL ^a , TRC y subpoblaciones ateroprotectoras
Cese de hábito tabáquico	5-10	Incremento de los niveles de LCAT ^b , LPL y TRC Disminución de CETP ^c
Pérdida de peso	0,35 mg/dl/kg de peso perdido	Incremento de LCAT, LPL y TRC
Consumo de alcohol	5-15	Incremento de ABC-A1, apo-A1, paroxonasa Disminución de CETP
Incremento de la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados	0-15	Mejora ratio c-LDL/c-HDL Incremento subpoblaciones ateroprotectoras

Tabla 2.7: Principales intervenciones terapéuticas no farmacológicas para incrementar los niveles de c-HDL (Fuente: Badimón et al. 2010)

^a lipoproteín lipasa

^b lecitín-colesterol-acil-transferasa

^c proteína transportadora de ésteres de colesterol

Fármaco	Incremento de c-HDL (%)	Efectos secundarios
ÁCIDO NICOTÍNICO	20-30	Enrojecimiento, prurito, náuseas, vómitos Aumenta los niveles de GOT ^a , GPT ^b , LDH, ácido úrico, glucemia Hepatotoxicidad, arritmias
FIBRATOS	10-20	Náuseas, vómitos, estreñimiento, dolor abdominal, cefalea Aumenta GOT, GPT, CK ^c
ESTATINAS	5-10	Miopatía, hepatitis, colelitiasis, pancreatitis Mialgias, náuseas, vómitos, estreñimiento, diarrea Aumenta GOT, GPT, CK
RIMONABANT	5-10	Miopatía, hepatitis, citopenia, pancreatitis, fotosensibilidad Náuseas, vómitos, diarrea, artralgias, faringitis Ansiedad, depresión, toxicidad del sistema nervioso central, mareo
TAZOLIDINDIONAS	5-10	Mialgia, cefalea, fatiga, sinusitis, urticaria, insuficiencia cardíaca Hepatotoxicidad (rosiglitazona) Aumento de riesgo cardiovascular (rosiglitazona)

Tabla 2.8: Principales tratamientos farmacológicos para disminuir los niveles de c-HDL (Fuente: Badimón et al. 2010)

^atransaminasa glutámico-oxalacética

^btransaminasa glutámico-pirúvica

^ccreatin-kinasa

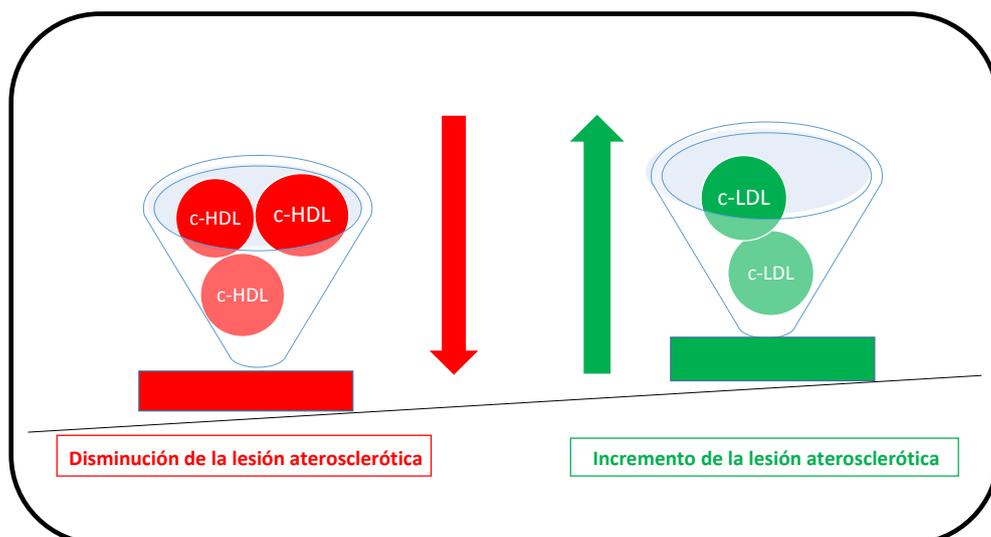


Figura 2.10: *El mejor tratamiento contra la enfermedad aterosclerótica es disminuir las concentraciones de c-LDL o elevar las de c-HDL (Fuente: Badimón et al. 2010).*

conocemos el papel cardioprotector y ateroprotector que cumple cada grupo de moléculas. Teniendo en cuenta que las terapias que se utilizan para incrementar los niveles de c-HDL también actúan de forma distinta sobre las distintas subpoblaciones de c-HDL, es importante el conocimiento de la funcionalidad de estas moléculas con la finalidad de conseguir una mejora en la eficacia de los tratamientos (Escola Gil et al., 2014; Rye y Barter, 2014).

Entre los principales compuestos farmacológicos utilizados para corregir los niveles elevados de c-LDL destacan las estatinas

y entre ellas la simvastatina, que presenta efectos pleiotrópicos antiinflamatorios derivados de la inhibición de la prenilación proteica³³. Inhibe por tanto la producción de las quimiocinas MCP-1 y MIP-1 (proteína inflamatoria de macrófagos-1) en células endoteliales vasculares y macrófagos humanos (Palomer, 2012).

2.5. Estatinas

En los años 60, *The American Heart Association* comenzó a poner de manifiesto la importancia de los niveles sanguíneos de colesterol en el RCV. En aquel momento los únicos fármacos disponibles para reducir el colesterol en plasma eran algunos fibratos y la colestira-

³³prerequisito básico para la actividad de proteínas como la subunidad de las proteínas G y pequeñas proteínas de unión a GTP (guanósín-trifosfato), implicadas en procesos de expresión génica, apoptosis, tráfico transmembrana y proliferación y migración celular.

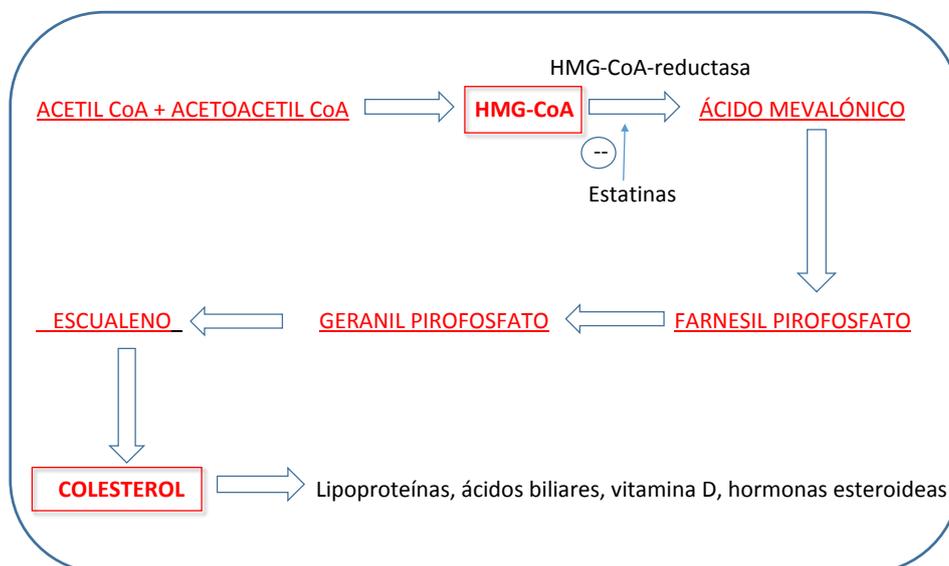


Figura 2.11: Vía de síntesis del colesterol e intermediarios isoprenoides (Fuente:Lorenzo et al. 2012)

mina, todos ellos con una eficacia limitada. El descubrimiento de las estatinas por *Endo* en el año 1973 abrió un nuevo camino en la terapia hipolipemiente al tratarse de sustancias con elevada eficacia en la reducción plasmática de colesterol, lo que constituyó el punto de partida para una nueva línea de trabajo que vio la luz con la comercialización de lovastatina en el año 1987 (García-Sabina et al., 2012).

Las estatinas son un grupo de fármacos análogos del ácido mevalónico que producen una potente inhibición competitiva y reversible de la HMG-COA-reductasa, la enzima limitante en la síntesis endógena de colesterol (ver figura 2.11) (Lorenzo et al., 2012).

Las primeras estatinas que aparecieron fueron la mevastatina y la lovastatina. Se trata de dos productos naturales obtenidos a partir del *Penicilium citrinum* y del *Aspergillus terreus*, respectivamente. Tienen una estructura muy parecida a la de la hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA), que es el precursor inmediato del ácido mevalónico y éste, a su vez, precursor fundamental para la síntesis de colesterol. Demostrada su capacidad de inhibir la síntesis de colesterol, la mevastatina no pudo ser utilizada en la clínica por su toxicidad: sí en cambio la lovastatina, de la cual se obtuvieron un derivado metilado, la simvastatina, y la pravastatina.

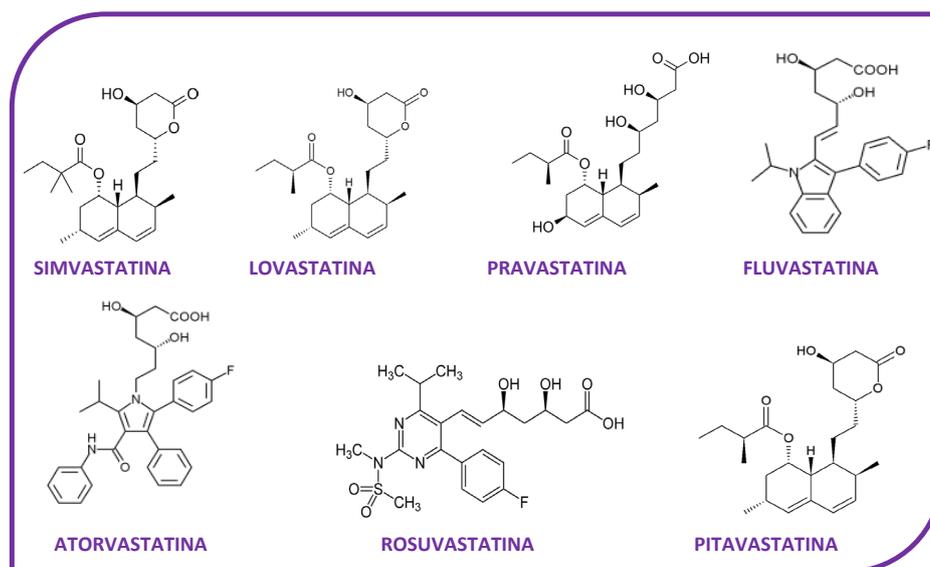


Figura 2.12: Estructura química de las estatinas existentes en el mercado (Fuente:Lorenzo et al. 2012)

Estatina	Dosis/día	% de disminución de c-LDL
Rosuvastatina	5–40 mg	45 %
Pitavastatina	2–4 mg	42 %
Simvastatina	10–80 mg	41 %
Atorvastatina	10–80 mg	38 %
Pravastatina	20–80 mg	34 %
Lovastatina	20–80 mg	30 %
Fluvastatina	40–80 mg	23 %

Tabla 2.9: Dosis diaria y porcentaje de disminución de c-LDL de las estatinas (Fuente: Lorenzo et al. 2012)

Posteriormente se han sintetizado la fluvastatina, la atorvastatina y la rosuvastatina (Flórez, 2013). La estructura química de las 7 estatinas comercializadas se expone en la figura 2.12.

La pitavastatina es la última estatina comercializada hasta el momento. La dosis diaria requerida de cada uno de estos 7 tipos de estatinas y su eficacia en la disminución de los niveles de c-LDL se refleja en la tabla 2.9.

En el aspecto farmacocinético las estatinas presentan importantes diferencias entre sí, en aspectos como la semivida de eliminación, los niveles plasmáticos, la concentración plasmática máxima, la biodisponibilidad, la unión a proteínas lipofílicas, el metabolismo, la presencia de metabolitos activos y las vías de excreción (Badimon, 2011).

Existen numerosos estudios en los cuales se compara la actividad de las distintas estatinas. Sabemos que las formas activas de simvastatina y lovastatina son aproximadamente 10 y 4

veces más potentes que pravastatina en su acción inhibidora de la enzima HMG-CoA-reductasa. Además se ha demostrado que en cultivos de células hepáticas la simvastatina es capaz de inhibir la incorporación de C14-acetato a C14-esterol 20 veces más que pravastatina. Por otra parte se ha visto que la simvastatina y la lovastatina son fármacos que tienen afinidad por el hígado. En ratas que recibieron lovastatina o simvastatina a dosis de 25 mg/kg, se detectaron concentraciones de éstos fármacos en riñón, bazo, testículos y glándula adrenal a un 2–16 % de los niveles encontrados en el hígado. También se ha observado que a ratas a las que se administró simvastatina, lovastatina o pravastatina bajaron sus niveles de colesterol plasmático después de 4 días de tratamiento. La administración de dichos fármacos a dosis de un 0,02 % redujo los niveles de colesterol plasmático de las ratas en un 64 %, 33 % y 23 %, respectivamente (Chao et al., 1991).

Desde la década de los noventa diversos ensayos clínicos han ido demostrando los efectos beneficiosos del tratamiento con estatinas para la prevención primaria y secundaria de enfermedad cardiovascular (Baker y Datta, 2011). De hecho se ha demostrado la existencia de una relación lineal entre la reducción absoluta de c-LDL alcanzada y la incidencia de enfermedad coronaria u otros eventos vasculares mayores. Además se han disipado en gran medida las dudas sobre la seguridad y la tolerabilidad del tratamiento con estatinas, lo que las sitúa como tratamiento de primera línea para la hipercolesterolemia y la prevención de la enfermedad cardiovascular. En los últimos años diversos estudios clínicos han demostrado que cuanto más drástica es la reducción de las cifras de colesterol menor es el riesgo de sufrir un evento cardiovascular (Badimon, 2011).

Existen numerosos estudios que demuestran la eficacia de las estatinas en la prevención de la enfermedad cerebral vascular. A modo de ejemplo, en la tabla 2.10 se incluye un resumen.

Se han realizado varios ensayos clínicos controlados y aleatorizados con placebo con un gran número de pacientes para determinar los efectos de los inhibidores de la HMG-CoA-reductasa en la morbilidad y mortalidad cardiovascular con resultados positivos.

Uno de ellos es el *Scandinavian Simvastatin Survival Study* («4S»), publicado en 1994. En este estudio se valora el efecto de la administración de 20–40 mg/día de simvastatina a 4444 pacientes con angina o que habían sufrido un infarto de miocardio y cuyo colesterol en plasma era de 212,3 a 308,8 mg/dl. Se obtuvo una reducción del c-LDL en suero de un 35 % y un incremento del c-HDL en suero en un 37 %. El tratamiento se continuó durante 5,4 años

Estudio	<i>AFCAPS/</i> <i>TexCAPS</i>	<i>WOSCOPS</i>	<i>HPS</i>	<i>ASCOT</i>
Número de pacientes	6.605	6.595	11.132	10.305
Criterio de inclusión	Ambos sexos 45-73 años CT y c-LDL promedio c-HDL bajo	Hombres 45-64 años sin antecedentes IAM c-LDL > 155mg/dl	Ambos sexos 40-80 años CT > 135mg/dl DM o HTA	Ambos sexos 40-79 años HTA + 3FR CT < 250mg/dl
Seguimiento	5,2 años	4,9 años	5 años	3,3 años
Intervención	Lovastatina 20-40 mg/día	Pravastatina 40 mg/día	Simvastatina 40 mg/día	Atorvastatina 10 mg/día
Reducción de lípidos	c-LDL menor a 35 mg/dl	c-LDL menor a 50 mg/dl	c-LDL menor a 38 mg/dl	c-LDL menor a 38 mg/dl
Reducción de eventos	37 %	31 %	25 %	36 %

Tabla 2.10: Algunos estudios realizados que evalúan el efecto de las estatinas sobre la enfermedad vascular cerebral (Fuente: Lorenzo et al. 2012)

de media y produjo una reducción del 28 % en el riesgo de muerte cardiovascular con una reducción del 30 % en la mortalidad por enfermedad coronaria y una reducción del 15 % en la incidencia de ictus (Rang et al., 2012).

Las estatinas también tienen efectos anabólicos y antirresortivos sobre hueso además de generar un incremento de la masa mineral ósea en cadera y cuello femoral. Algunos estudios han demostrado también que una dieta hiperlipídica promueve el daño renal mientras que las estatinas le confieren un efecto renoprotector en la expresión de citocinas y quimiorreceptores. Las estatinas han demostrado además su papel preventivo frente al cáncer teniendo una clara influencia en la evolución a formas más avanzadas y graves de cáncer de próstata y constituyendo un claro papel preventivo en el desarrollo de cáncer de recto y colon. Por otra parte pueden actuar como antirretrovirales impidiendo la replicación del virus del VIH en la célula (Lorenzo et al., 2012).

Los efectos adversos bien documentados relacionados con el uso de estatinas son la toxicidad muscular (miopatías y rabdiomiólisis) y elevación de las enzimas hepáticas. Si se detecta miopatía o rabdiomiólisis el tratamiento con estatinas debe retirarse de forma inmediata. Puede observarse además una elevación de transaminasas en los primeros 6 meses del tratamiento con estatinas. Se contraindican en pacientes embarazadas o en período de lactancia. La mayoría de las estatinas pueden ser recetadas de forma segura en insuficiencia renal e incluso utilizarse para preservar la filtración glomerular. El tratamiento con estatinas en niños rara vez está indicado, únicamente en casos de hiperlipidemia familiar (Fernández-Aguilar et al., 2008).

2.5.1. Propiedades físico-químicas

La simvastatina es un polvo soluble de color blanco, prácticamente insoluble en agua y soluble en cloroformo, metanol y etanol. Es realmente una lactona y es su metabolito β -hidroxilado (β -hidroxiácido de simvastatina o simvastatina ácida) el que presenta actividad farmacológica. Su elevada lipofilia le permite atravesar las membranas celulares fácilmente por difusión pasiva (Badimon, 2011).

2.5.2. Mecanismo de acción y propiedades farmacológicas

La simvastatina es un eficaz inhibidor competitivo y reversible de la enzima HMG-CoA-reductasa. La afinidad de la simvastatina por la HMG-CoA-reductasa *in vitro* es 13.000 veces mayor que la de su sustrato natural, el HMG-CoA. En consecuencia reduce la biosíntesis intracelular hepática del colesterol y disminuye su depósito celular.

Puesto que la cantidad de colesterol intracelular guarda una relación inversa con la velocidad de síntesis de los receptores celulares para las c-LDL, la reducción de la concentración intracelular de colesterol provocada por la simvastatina ocasiona la estimulación de la síntesis de receptores de c-LDL y su expresión en la superficie de las células hepáticas. Estos receptores cumplen la función de captar en las células hepáticas no sólo a las c-LDL sino también a sus precursores, las c-VLDL y sus remanentes, las lipoproteínas de densidad intermedia (c-IDL)³⁴, cuya hidrólisis produce las c-LDL. Ya que la región promotora del gen de la HMG-CoA-reductasa posee elementos de respuesta a esteroides (SREBP), la transcripción de este gen aumenta también al producirse la depleción intracelular del contenido de colesterol. Cuantas más c-VLDL y sus remanentes sean captados menor número de c-LDL se formará; por lo tanto, el aumento de receptores de c-LDL inducido por la simvastatina no sólo reduce la síntesis hepática de colesterol y su disponibilidad para incorporarse a las c-LDL sino que por un mecanismo indirecto aumenta el catabolismo de las c-VLDL y sus remanentes y reduce por consiguiente el número de moléculas que deberían convertirse en c-LDL. La acción sobre las c-VLDL explica a su vez la reducción en menor grado y más inconstante que la simvastatina produce en los triglicéridos.

El hígado es el órgano diana por excelencia de la simvastatina. Su gran capacidad para retener la simvastatina durante el primer paso tras su absorción intestinal (con lo que es bajo el nivel alcanzado en el resto de los tejidos) y los fenómenos de compensación que se desarrollan en las células extrahepáticas hacen que la reducción del colesterol en éstas sea irrelevante y mantengan el nivel suficiente para llevar a cabo sus funciones (Flórez, 2013).

Las principales propiedades farmacológicas de las estatinas son:

³⁴intermediate density lipoprotein

Efectos sobre las lipoproteínas

La simvastatina produce una reducción dosis-dependiente de los niveles plasmáticos de CT, c-LDL y TG y un discreto aumento de los niveles de c-HDL. La disminución de c-LDL alcanza su efecto máximo a las dos semanas de tratamiento. Para conseguir un descenso significativo de c-LDL basta una dosis de 5 mg de simvastatina diarios. Para obtener un descenso del 35 % o más se deben administrar 20–40 mg de simvastatina diarios. La simvastatina también modifica la expresión de las apolipoproteínas. Así, reduce la apo-B100, que representa el 95 % del contenido proteico de las c-LDL, la apo-C2, y la apo-E y aumenta la apo-A1 y la apo-A2, que representan el 80 % del contenido proteico de las c-HDL. Estos cambios en la composición de apolipoproteínas determinan que las c-LDL sean menos susceptibles a la oxidación. Sin embargo, la simvastatina no modifica las concentraciones plasmáticas de LP(A) (Lorenzo et al., 2012).

Acciones pleiotrópicas

Los efectos de la simvastatina en la prevención de episodios vasculares que no se deben a la reducción de las cifras de c-LDL se han denominado efectos pleiotrópicos.

Así, por ejemplo, Yañez y Davalos (2008) demostraron que la simvastatina modifica la función endotelial, estabiliza la placa de aterosclerosis y disminuye la respuesta inflamatoria, al disminuir la proliferación y la migración de células musculares lisas, la acumulación de colesterol en los macrófagos y la expresión de metaloproteasas.

Shen et al. (2011) también afirmaron que la simvastatina posee beneficios independientes de su actividad sobre el perfil lipídico que incluyen la mejora de la función endotelial, inhibición de la inflamación, y reducción del grado de infarto de miocardio o cerebral.

En un estudio preclínico realizado por Lee et al. (2009), se le atribuyen a la simvastatina propiedades antitumorales administrándola conjuntamente con irinotecan, leucovorina y 5-fluorouracilo.

Estas acciones pleiotrópicas están relacionadas con la producción de isoprenoides. La inhibición de la síntesis de ácido mevalónico disminuye la formación de varios isoprenoides que regulan diversas funciones celulares, como la isopentiladenosina (presente en algunos ARN de transferencia), el geranyl-geraniolpifosfato y farnesilpifosfato (ver figura 2.11). Estos dos

últimos regulan la isoprenilación de dolicoles (participan en la síntesis de lipoproteínas), ubiquinona y hem A (participan en la cadena transportadora de electrones) y diversas proteínas de señalización intracelular (por ejemplo, las proteínas G de pequeño tamaño RHO A, RAS, RAC1 y CDC42) necesarias para la proliferación y diferenciación celular, la expresión génica, el ensamblaje del citoesqueleto, el transporte de lípidos y proteínas y la fibrinólisis (Lorenzo et al., 2012).

Ramos-Esquivel y León-Céspedes (2007) consideraron además que mediante la isoprenilación de las proteínas RAC1 generada por la acción de la simvastatina se impide que éstas se trasladen desde el citosol hasta la membrana celular, impidiendo la activación de la NADPH oxidasa ³⁵, y disminuyendo por tanto la formación de radicales libres.

Efectos sobre la función endotelial

La disfunción endotelial contribuye a la iniciación del proceso aterosclerótico. Se asocia con una vasoconstricción producida por la acetilcolina y que implica la síntesis, liberación y actividad del óxido nítrico por las células endoteliales (Echeverri et al., 2005).

El óxido nítrico es un gas generado en las células endoteliales mediante la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa endotelial (NOS_e). El NO generado por la actividad de la NOS_e es responsable de la respuesta vasodilatadora dependiente del endotelio. Se ha demostrado que ésta se encuentra reducida en modelos animales y en pacientes hipercolesterolémicos. Las moléculas de c-LDL oxidadas inhiben la expresión de la NOS_e, que viene determinada por la unión al ARN_m de determinadas proteínas citosólicas, que lo desestabilizan. Concretamente, la unión de la proteína inductora de la disfunción endotelial a la región 3'-UTR del ARN_m de la NOS_e (EDIP) genera una desestabilización de éste, una menor producción de NO y por consiguiente, una menor respuesta vasodilatadora de las células endoteliales (Jiménez et al., 2002).

La simvastatina restaura la función endotelial por varios mecanismos:

1. La administración de simvastatina es capaz de generar una estabilización del ARN_m de la NOS_e, consiguiendo una mayor respuesta vasodilatadora del endotelio (Jiménez et al., 2002).

³⁵La enzima NADPH oxidasa cataliza la reacción de oxidación del NADPH a NADP⁺, utilizando para ello oxígeno molecular y produciendo peróxido de hidrógeno.

2. Es capaz de inhibir la expresión de ARN_m de pre-pro-endoelina-1 y disminuir la síntesis de endotelina, péptido endotelial con propiedades vasoconstrictoras y proliferativas (Sotomayor et al., 1999).
3. Actúa como molécula antioxidante y barredora de radicales libres disminuyendo la formación de moléculas de c-LDL oxidadas y radicales superóxido (Lorenzo et al., 2012).

Echeverri et al. (2005) realizaron un estudio en sujetos con colesterol moderadamente elevado (239,32 a 289,5 mg/dl). El tratamiento con 20 mg/día de simvastatina, comparado con placebo, incrementó ($p < 0,005$) la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina determinada por el flujo sanguíneo braquial cuatro semanas después del inicio de la terapia. Después de tres meses adicionales de tratamiento el grupo que recibió simvastatina incrementó de forma más significativa ($p < 0,005$) dicha respuesta en comparación a la observada a las cuatro semanas de tratamiento.

Efectos sobre la oxidación de c-LDL

La simvastatina es capaz de disminuir el stress oxidativo mediante la reducción de la producción de ERO (especies reactivas del oxígeno) y el incremento de la resistencia de las moléculas de c-LDL a la oxidación. Esta afirmación fue hecha por Parizadeh et al. (2011), que encontraron que el tratamiento con simvastatina durante 4 semanas reducía de forma significativa los valores medios de PAB (balance pro-oxidante/antioxidante).

Además, Echeverri et al. (2005) comprobó que las partículas de c-LDL oxidadas están cargadas electronegativamente. Posibles causas de la electronegatividad del c-LDL incluyen la glicación y un contenido anormal de ácido siálico que es causa de citotoxicidad. En pacientes con hipercolesterolemia familiar el tratamiento con 40 mg/día de simvastatina disminuyó significativamente la proporción de c-LDL electronegativo después de tres meses de tratamiento (29 %; $p = 0,0002$) y pasados seis meses (21 %; $p < 0,0001$). Durante seis meses de terapia con simvastatina la cantidad de colesterol transportado en c-LDL electronegativo siguió reduciéndose hasta un 60 %.

Por su parte Iliodromitis et al. (2010) administraron simvastatina durante 3 semanas obteniendo una reducción de la magnitud de un infarto mediante la atenuación del stress oxidativo y nitrosativo en conejos normo e hipercolesterolémicos.

Efectos sobre los componentes de la placa de ateroma

La rotura de la placa de ateroma se produce con mayor facilidad en las placas con alto contenido en lípidos y macrófagos, factor tisular y moléculas de adhesión. Los macrófagos activados de la placa además, liberan metaloproteinasas que degradan la matriz extracelular y destruyen la capa fibrosa facilitando la rotura de la placa. La simvastatina disminuye la expresión de moléculas de adhesión en los monocitos y la entrada de éstos al subendotelio, la oxidación de las c-LDL, además de la acumulación de ésteres de colesterol en los macrófagos de la placa. Todos estos efectos estabilizan la placa de ateroma y previenen su rotura (Lorenzo et al., 2012).

Sotomayor et al. (1999) también afirmaban que la simvastatina es capaz de inhibir la oxidación de c-LDL, contribuyendo este efecto antioxidante a la disminución de la formación de células espumosas. Explicaron este efecto de la simvastatina por su unión a la fracción fosfolipídica de las c-LDL protegiendo al core de la lipoproteína de la acción oxidante de radicales libres. Además la simvastatina es capaz de inhibir la migración transendotelial de neutrófilos así como de alterar la capacidad quimiotáctica de los monocitos.

Lu et al. (2009) administraron una dosis diaria de 2,5mg/kg de simvastatina a un grupo de conejos durante 6 semanas. Los resultados mostraron una estabilización de placa aterosclerótica y una inhibición de la angiogénesis en ésta. Atribuyeron la acción a una disminución de la secreción de MMP_s (metaloproteinasas de la matriz extracelular), enzimas implicadas en la digestión de la matriz extracelular y que aceleran la ruptura de la placa de ateroma. También podría inhibir la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)³⁶. La inhibición de la expresión del factor VIII relacionado con los antígenos (FVIIIIRA)³⁷ podría ser otro mecanismo implicado en este proceso.

Efectos sobre el proceso inflamatorio

La simvastatina es capaz de inhibir la isoprenilación requerida para la activación de las proteínas guanosina trifosfatasa (GTPasas)³⁸ (Ramos-Esquivel y León-Céspedes, 2007).

³⁶factor de crecimiento que promueve la mitosis de las células vasculares endoteliales y que acelera la formación de la placa de ateroma.

³⁷glicoproteína existente en las células endoteliales que participa en el proceso de angiogénesis.

³⁸Proteínas pequeñas que se encargan de activar la cadena de reacciones químicas intracelulares que llevan a la expresión y modulación de sustancias y promotores inflamatorios como el NF- κ B.

Echeverri et al. (2005) relacionaron la presencia de marcadores inflamatorios como hs-PCR, IL-6, molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y amiloide sérico A (SAA) con un incremento en el riesgo de presentación de un primer evento o eventos cardiovasculares recurrentes. Además compararon los efectos con pravastatina, simvastatina y atorvastatina en los niveles de hs-PCR en pacientes con hiperlipidemia combinada. Los tres medicamentos a las dosis utilizadas demostraron tener efectos equivalentes sobre el c-LDL consiguiendo una reducción significativa de los niveles medios de hs-PCR (20 % con pravastatina, 23 % con simvastatina y 28 % con atorvastatina). Estas reducciones no tuvieron correlación con los efectos sobre el c-LDL.

Efectos sobre la proliferación, migración y apoptosis de las células musculares lisas vasculares

La simvastatina es capaz de realizar una modulación del crecimiento celular. Las proteínas RAS y RHO regulan señales de traducción que se encargan de la transcripción de genes involucrados en la proliferación y diferenciación celular, así como en la apoptosis. Mutaciones en los genes que codifican estas proteínas forman oncogenes encontrados en una amplia variedad de tumores; por ejemplo, en un 90 % de las neoplasias de páncreas, 50 % de las tumoraciones de colon y tiroides y aproximadamente en un 30 % de las leucemias mieloides y en el cáncer de pulmón (Ramos-Esquivel y León-Céspedes, 2007).

Sotomayor et al. (1999) también consideraron que la simvastatina es capaz de afectar a los procesos de migración y proliferación celular induciendo la apoptosis de las células del músculo liso de la pared arterial en cultivo, relacionándose este efecto con la prenilación de proteínas RHO. Otro de los mecanismos de señalización celular afectado por la simvastatina es la concentración de Ca^{2+} intracelular. En este sentido se ha comprobado que la incubación de células de musculatura lisa vascular con simvastatina es capaz de disminuir la liberación de Ca^{2+} en respuesta a vasopresina y angiotensina II, agonistas que provocan la estimulación, tanto de la proliferación como de la migración de células de músculo liso vascular. Esta señal cálcica está a su vez controlada por proteínas G de bajo peso molecular que sufren el proceso de prenilación para su correcto funcionamiento.

La respuesta mitogénica de las células de musculatura lisa vascular también está mediada por la proteína kinasa C. Existen datos que confirman que la inhibición de la HMG-CoA-

reductasa generada por simvastatina es capaz de estimular la actividad proteina kinasa C generando una inhibición de la proliferación de células de musculatura lisa vascular.

Por último, sabemos que el tratamiento con simvastatina consigue inhibir la proliferación de miocitos de aorta. También logra inhibir la migración así como la hipertrofia de las células de la musculatura lisa vascular.

Acciones antitrombóticas

La hipercolesterolemia se asocia normalmente a trastornos que favorecen la coagulación así como a un aumento de la reactividad de las plaquetas y a un incremento de los niveles de tromboxano B2. Desde hace tiempo se sabe que en pacientes hipercolesterolémicos tratados con simvastatina, estos parámetros se normalizan. El tratamiento con simvastatina ha sido capaz de disminuir *ex vivo* la producción de tromboxanos A2 y B2. Además la inhibición de la HMG-CoA-reductasa incrementa la actividad fibrinolítica de las células endoteliales aumentando la actividad del factor activador del plaminógeno tisular (Sotomayor et al., 1999).

Acciones protectoras vasculares

Carnicer et al. (2008) estudiaron el efecto de la administración de simvastatina a ratones con falta en los genes *apo a* y *cbs*, mostrando estos animales una hiperhomocisteinemia en combinación con una hipoalfalipoproteinemia inducida. Esta situación generaba como resultado una hipertensión y una disminución de los niveles circulantes de óxido nítrico. El ensayo demostró que el tratamiento con simvastatina en este modelo de hipertensión moderada restaura los niveles de hipertensión arterial normal mediante el incremento de los niveles de óxido nítrico y la reducción de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina en plasma probablemente a través de la disminución de la peroxidación lipídica.

Sotomayor et al. (1999) destaca también el efecto relajante de simvastatina sobre aorta y arterias mesentéricas aisladas de rata y la modulación por parte del endotelio de la acción simvastatina sobre anillos de aorta.

Otras acciones

Existen numerosos estudios en los que se valoran otras acciones de simvastatina no mencionadas anteriormente. Por ejemplo, Skoglund y Aspenberg (2007) comprobaron el efecto

beneficioso de su administración directa sobre una fractura dando como resultado un efecto positivo en los parámetros biomecánicos de ésta. Por otra parte, Khori et al. (2011) afirmó que simvastatina posee un efecto potencial protector al reducir la velocidad de conducción ventricular en pacientes con taquicardia ventricular.

(Shen et al., 2011) demostraron que la administración de simvastatina a dosis de 1,8 mg/Kg/día a conejos³⁹ es capaz de incrementar la densidad capilar de un miocardio isquémico y mejorar la función cardíaca después de un infarto agudo de miocardio.

2.5.3. Farmacocinética

Absorción

La absorción de simvastatina en el hombre es buena y sus concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan al cabo de 1 a 3 horas. Presenta una lactona en su estructura, que sufre un importante efecto de primer paso hepático hidrolizándose en el hígado y formándose su correspondiente β -hidroxiácido que es un potente inhibidor de la HMG-CoA-reductasa, por lo que debe considerarse un profármaco. La extracción en el hígado es dependiente del flujo sanguíneo hepático. La hidrólisis llevada a cabo en el plasma humano es prácticamente despreciable. La biodisponibilidad del β -hidroxiácido para la circulación sistémica de una dosis oral de simvastatina es menor de un 5%. La ingesta concomitante de alimentos no afecta a la absorción de simvastatina. No se produce acumulación del fármaco después de múltiples dosis (Lorenzo et al., 2012; Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

La simvastatina se administra por vía oral (5–80 mg/día). Si fuera necesario un ajuste de dosis se realizaría como mínimo cada 4 semanas llegando como máximo a 80 mg/día. Esta dosis se administra únicamente a pacientes que presenten una hipercolesterolemia grave y un elevado riesgo de complicaciones cardiovasculares. Se administra en una única dosis diaria habitualmente con la cena ya que la síntesis de colesterol es máxima entre las 0.00 y las 4.00 horas (Lorenzo et al., 2012; Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014)

La dosis inicial que se utiliza habitualmente para el tratamiento de la hipercolesterolemia

³⁹Equivale a la dosis de 40 mg/día en humanos

es de 10–20 mg/día. Esta dosis puede ser de 20–40 mg/día al comienzo del tratamiento para aquellos pacientes que necesitan una disminución de los niveles de c-LDL más importante.

Para el tratamiento de la hipercolesterolemia familiar homocigota se recomienda o bien la dosis de 40 mg/día en una única toma por la noche o la dosis de 80 mg/día repartida en 3 tomas a lo largo del día utilizando la dosis de 20 mg en las dos primeras tomas y la de 40 mg en la toma de la noche.

Para aquellos pacientes que presenten un elevado riesgo de cardiopatía coronaria, presenten o no una hiperlipidemia, la dosis utilizada es de 20–40 mg/día en una sola toma por la noche (Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

La dosis de simvastatina debe administrarse como mínimo 2 horas antes o más de 4 horas después de la administración de un secuestrante de ácidos biliares (resina de intercambio iónico)⁴⁰. La dosis empleada de simvastatina en el caso de tratamiento concomitante con ciclosporina, danazol, gemfibrozilo u otros fibratos (a excepción de fenofibrato) no debe exceder los 10 mg/día. Por otra parte, la dosis utilizada de simvastatina en caso de tratamiento concomitante con amiodarona o verapamilo no debe ser superior a 20 mg/día.

En caso de insuficiencia renal moderada no deben realizarse ajustes en la dosis administrada. Por otra parte, la presencia de una insuficiencia renal grave no permite la administración de una dosis superior a 10 mg/día, solamente en casos estrictamente necesarios y con mucha precaución.

En ancianos no son necesarios ajustes de dosis (Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

Distribución

Se une en más de un 95 % a proteínas plasmáticas (Lorenzo et al., 2012).

Metabolismo

El metabolismo hepático es muy intenso. La simvastatina se biotransforma en el hígado a través de la isoenzima CYP3A4 del citocromo P-450. Esta isoenzima metaboliza varios fármacos: ciclosporina, eritromicina, imidazoles y etinilestradiol, lo que puede provocar interacciones

⁴⁰fármacos hipolipemiantes que se unen a los ácidos biliares y evitan la formación de colesterol, por ejemplo la colestiramina.

importantes (Lorenzo et al., 2012).

No sólo el metabolismo hepático, sino también el intestinal, puede disminuir en gran medida la disponibilidad de simvastatina. La expresión de la enzima CYP3A4 en enterocitos maduros, localizada fundamentalmente a nivel de las vellosidades de la mucosa yeyunal, es comparable o incluso sobrepasa la expresión de dicha enzima a nivel de los hepatocitos (Watkins, 1992). Por lo tanto, la simvastatina presentará variaciones en su biodisponibilidad en función del lugar del intestino en el que absorba, debido principalmente a las diferencias regionales en la capacidad del intestino para metabolizar la simvastatina (Thorn et al., 2005).

Según Tubic-Grozdanic et al. (2008), la combinación de liberación controlada y retardada dentro del intestino delgado distal y el colon proximal dio como resultado unos niveles plasmáticos de simvastatina más altos que una liberación inmediata a igual dosis. Esto permitiría reducir la dosis de la forma de liberación prolongada, disminuyendo los efectos adversos de la simvastatina.

Excreción

La semivida de eliminación de la simvastatina es corta, de 1,9 horas. Dada la variación circadiana de la actividad de la HMG-CoA-reductasa, esta corta semivida hace que sea más efectiva cuando se administra a última hora. Sus metabolitos se excretan en un 87% por vía biliar y en un 13% por vía renal, por lo que sus niveles plasmáticos se incrementan en pacientes con hepatopatías (Lorenzo et al., 2012).

La simvastatina es transportada activamente al interior de los hepatocitos por el transportador OATP1B1⁴¹ (Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

Poblaciones especiales

Los individuos portadores del gen SLCO1B1 alelo *c.521tc* tienen una actividad transportadora OATP1B1 más baja, siendo el transporte de simvastatina al interior de los hepatocitos más lento. La exposición sistémica de estos individuos a simvastatina es mayor, pudiendo conducir a un mayor riesgo de reacciones adversas (Departamento Técnico del Consejo General

⁴¹Proteína transportadora de membrana presente principalmente en hígado y riñón que media el transporte de los principales aniones orgánicos, como bilirrubina y numerosas hormonas, para su posterior excreción.

de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014).

Diversos autores han estudiado el comportamiento cinético de simvastatina en conejos. Dado que la biodisponibilidad sistémica de simvastatina es menor de un 5% y que se trata de un principio activo lipofílico con una mala o muy mala solubilidad en agua, se diseñaron distintas formas de liberación de esta estatina, con el fin de incrementar su biodisponibilidad favoreciendo su solubilidad en agua. Por ejemplo, la síntesis de nanopartículas de simvastatina, que se llevó a cabo mediante la introducción del polvo de la simvastatina en el interior de estas partículas de un tamaño aproximado de 200–600 nm. Así pues, Shinde y More (2014) llevaron a cabo el análisis de la cinética de nanopartículas de simvastatina en conejos albinos comparando la biodisponibilidad de la administración de una dosis oral única de nanopartículas de simvastatina con la administración de la droga pura y los comprimidos de esta estatina. La determinación de simvastatina se realizó en plasma mediante HPLC. Se estudiaron los parámetros farmacocinéticos de área bajo la curva (AUC), concentración máxima (C_{\max}), tiempo empleado en alcanzar la concentración máxima (t_{\max}), semivida de eliminación ($T_{1/2}$), tiempo de respuesta media (MRT), constante de eliminación (K_e) y biodisponibilidad relativa (F_r)⁴² para todas las formulaciones. Los resultados obtenidos fueron los representados en la tabla 2.11. La biodisponibilidad de simvastatina fue mayor para la formulación de nanopartículas que para la administración de la droga pura y en comprimidos. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos esta forma de liberación es muy adecuada para incrementar la biodisponibilidad oral de simvastatina.

Yakusheva y Popova (2012) evaluaron la farmacocinética del β -hidroxiácido de simvastatina (β HS)⁴³ en 6 conejos Chinchilla hembra a los que se les indujo un hipotiroidismo experimental mediante la administración de tiamazol a dosis de 5 mg/kg durante 21 días. La simvastatina se administró en una única dosis de 24 mg/kg por vía oral después de la administración de tiamazol (nivel basal) y en los días 7, 14 y 21 después del cese de la administración de éste fármaco (nivel test). Para controlar el hipotiroidismo en los conejos se midieron los niveles de tirotropina (TTH) y tiroxina (T_4) en suero en los días 7, 14 y 21 después de la administración de tiamazol mediante radioinmunoensayo. La concentración de β HS en plasma se determinó mediante HPLC. Las muestras de sangre se recolectaron de la vena marginal de la

⁴²Cantidad de fármaco que ingresa a la circulación sistémica y velocidad a la que se produce este ingreso.

⁴³Este producto se obtiene tras la hidrólisis de simvastatina en el organismo.

Parámetros farmacocinéticos	Simvastatina pura	Comprimidos de simvastatina	Nanopartículas de simvastatina
C_{max} (ng/ml)	34.00 ± 0.100	46.91 ± 0.194	63.35 ± 0.195
t_{max} (h)	1	1	2
AUC (ng/ml × h) (0 - 8 h)	152.72 ± 0.20	189.22 ± 0.23	235.36 ± 0.10
AUC (ng/ml × h) (0 - ∞ h)	174.18 ± 0.88	221.17 ± 0.89	264.42 ± 0.75
K_e	0,269	0,320	0,256
$T_{1/2}$ (h)	2,56	2,16	2,70
MRT (h)	3,68	3,11	3,88
F_r (%)	119,55 ^a	151,80 ^b	—
			—

Tabla 2.11: Valores obtenidos de AUC, C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, MRT, K_e y F_r para simvastatina pura, comprimidos y nanopartículas de simvastatina (Fuente: Shinde y More 2014)

^acalculado en AUC (0-∞ h)

^bcalculado en AUC (0-8h)

oreja después de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 horas de la administración de simvastatina.

En el día 7 de hipotiroidismo la administración de simvastatina produjo una disminución de los niveles de T_4 , C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} de β HS en un 64,2 % ($p < 0,001$), 24,2 % ($p < 0,001$), 21,3 % ($p < 0,01$) y 19,1 % ($p < 0,05$) respectivamente, en comparación con los niveles basales. Los valores de concentración de TTH, t_{max} y volumen de distribución (v_d)⁴⁴ fueron más elevados que los niveles basales, en un 192,3 %, 50 % ($p < 0,001$) y 53,3 % ($p < 0,01$), respectivamente.

En el día 14 de hipotiroidismo, la administración de simvastatina produjo una disminución de los niveles de T_4 , C_{max} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} de β HS en comparación con los niveles basales en un 53,3 % ($p < 0,001$), 36,5 % ($p < 0,001$), 20,6 % ($p < 0,01$) y 28,7 % ($p < 0,05$), respectivamente. Los valores de concentración de TTH, T_{max} y v_d fueron más elevados que los niveles basales, en un 146,1 % ($p < 0,001$), 50 % ($p < 0,001$) y 73,4 % ($p < 0,001$), respectivamente.

En el día 21 de hipotiroidismo la administración de simvastatina produjo una disminución de los niveles de T_4 , C_{max} y AUC_{0-t} de β HS en un 34,4 % ($p < 0,001$), 19,9 % ($p < 0,001$) y 19,5 % ($p < 0,01$) respectivamente, en comparación con los niveles basales. Los valores de concentración de TTH, t_{max} y v_d fueron más elevados que los niveles basales, en un 115,3 % ($p < 0,001$), 29 % ($p < 0,001$) y 73,4 % ($p < 0,001$), respectivamente. Los valores de $AUC_{0-\infty}$ no difirieron de forma significativa del nivel basal.

Los autores concluyeron que se produce un decrecimiento de los valores de C_{max} y $AUC_{0-\infty}$ y un incremento de t_{max} y v_d de β HS con respecto a los niveles basales en conejos con un hipotiroidismo experimental. Además los principales parámetros farmacocinéticos de β HS se correlacionaron con los niveles séricos de T_4 y TTH.

2.5.4. Reacciones adversas

La simvastatina es un fármaco bien tolerado aunque durante el tratamiento pueden aparecer reacciones adversas gastrointestinales (dispepsia, náuseas, flatulencia), cefalea, neuropatías periféricas, dificultad para dormir y concentrarse y enrojecimiento cutáneo. También puede producir hepatotoxicidad, caracterizada por anorexia, pérdida de peso, aumentos reversibles de transaminasas y hepatitis. En el 1 % de los pacientes tratados se puede producir un au-

⁴⁴Cuantifica la distribución de un medicamento en todo el cuerpo después de su administración por vía oral o parenteral. Es el volumen en el cual la cantidad administrada de fármaco necesitaría estar uniformemente distribuida para que en todos los órganos o compartimentos haya una concentración de éste igual a la que hay en el plasma sanguíneo.

mento superior a tres veces en los niveles de transaminasas, efecto que depende de la dosis; cuando se alcanzan estas cifras debe suspenderse el tratamiento observando que los niveles de transaminasas se normalizan al cabo de 2-3 meses (Lorenzo et al., 2012).

La reacción adversa más grave es la miopatía, caracterizada por mialgia, debilidad y fatiga muscular asociada a un incremento de los niveles plasmáticos de CK. Su incidencia es baja (< 0.1 %) pero aumenta con la dosis de simvastatina, o cuando se incrementan sus niveles plasmáticos. En raras ocasiones, la miopatía inducida por las estatinas puede progresar a rabdomiólisis con mioglobinuria e insuficiencia renal aguda que puede llegar a ser mortal. Para evitar la aparición de miopatías se recomienda utilizar la dosis mínima efectiva, indicar al paciente que contacte con su médico si aparece un cuadro de debilidad y dolor muscular y vigilar las posibles interacciones farmacológicas. Cuando se sospeche la presencia de miopatía se debe suprimir de forma inmediata el tratamiento con simvastatina (o con cualquier otro fármaco con el que pueda interactuar) y determinar los niveles plasmáticos de CK para confirmar el diagnóstico. La miopatía producida por simvastatina se ha atribuido a la inhibición de la síntesis de colesterol en el músculo estriado y su incidencia aumenta cuando se utilizan combinaciones de simvastatina con otros hipolipemiantes. Para evitar su aparición se recomienda, cuando se asocian varios hipolipemiantes, que la dosis de estatina no sea superior al 25 % de la dosis máxima y que el paciente se mantenga bajo estricto control médico. El riesgo de aparición de miopatías graves aumenta en pacientes con insuficiencia renal o hepática, hipotiroidismo, infecciones graves o edad avanzada (Lorenzo et al., 2012).

Kaminsky y Kosenko (2011) consideran que estos efectos secundarios de mialgia y rabdomiólisis generados por simvastatina son debidos fundamentalmente al daño mitocondrial que genera el fármaco a nivel celular. Este daño mitocondrial está producido por una depleción en el coenzima Q (CoQ)⁴⁵, que genera un incremento del stress oxidativo mitocondrial y una alteración de la β -oxidación de los ácidos grasos, afectando también a las funciones mitocondriales. La simvastatina provoca un daño en el DNA, terminando en una apoptosis celular.

⁴⁵Interviene en distintos procesos biológicos como la cadena de transporte electrónico, la β -oxidación de ácidos grasos y síntesis de nucleótidos. También se ha demostrado su implicación en la actividad de enzimas desacoplantes y en la apertura del poro mitocondrial y, por tanto, la regulación de la apoptosis. Muestra también una función antioxidante, ya sea de forma directa contra la formación de lipoperóxidos o de forma indirecta a través del reciclado de otros antioxidantes lipídicos como la vitamina E, o hidrosolubles como la vitamina C o ácido ascórbico.

Spalvieri y Oyola (2011) explican distintos mecanismos en los que la simvastatina estaría involucrada en la patogénesis de la miopatía. En primer lugar debido a la deficiencia de CoQ10, disminuyendo la producción de isoprenoides, en concreto, farnesilpirofosfato, intermediario en la biosíntesis de este coenzima, que se encarga de la producción de energía mitocondrial. Afirman que el bloqueo de la síntesis de colesterol por estatinas y en concreto, por simvastatina, reduce el contenido en colesterol de las membranas celulares del músculo esquelético, haciéndolas inestables. Consideran además que el desarrollo de miopatía es inducido por complejas interacciones con otras drogas y por polimorfismos genéticos ubicados en el citocromo P450. La simvastatina utiliza para metabolizarse, además de la vía del CYP3A4, el sistema enzimático CYP2D6. La característica importante de este último es que existen polimorfismos genéticos poblacionales que son los responsables del amplio rango de actividad observado en la enzima CYP2D6: desde un metabolismo ultra-rápido hasta ausencia absoluta de acción. Los portadores homocigotas o heterocigotas de deficiencias en el alelo CYP2D6 metabolizarían la simvastatina en baja proporción (MP: metabolizadores pobres) permitiendo una permanencia más prolongada en circulación con mayor riesgo de efectos tóxicos.

Nakahara et al. (1998) estudiaron la administración de simvastatina en conejos durante 4 semanas hallando posteriormente una necrosis de las fibras musculares y degeneración por microscopía óptica así como una hipercontracción de miofibrillas por microscopía electrónica.

La fase Z del estudio A TO Z (de la A la Z) ⁴⁶ probó la seguridad del uso de altas dosis de simvastatina (80 mg) en comparación con dosis estándar (20 mg), encontrando elevación de las enzimas hepáticas (tres veces sobre el límite superior normal) en 0,9 % de los pacientes tratados con altas dosis versus 0,4 % de los tratados con dosis estándar. Además se hallaron aumentos en la CK (10 veces sobre el límite superior normal o miopatía) en 0,4 % de los pacientes tratados con la dosis de 80 mg frente a 0,04 % de los pacientes tratados con la dosis de 20 mg. Solamente en la administración de simvastatina a 80 mg se observaron tres casos de rabdomiólisis (0,1 %) (Vanegas y Jaramillo, 2008).

⁴⁶Este estudio comparó el inicio temprano del tratamiento intensivo de una estatina contra el inicio tardío de un esquema de tratamiento menos intensivo en pacientes con síndromes coronarios agudos durante dos años de seguimiento mostrando una tendencia hacia beneficio.

2.5.5. Interacciones y contraindicaciones

Interacciones con medicamentos

Fármacos que se metabolizan por la vía del CYP3A4 o que inhiben esta isoforma

Son fármacos que reducen el metabolismo de la simvastatina, por lo que incrementan sus concentraciones plasmáticas y el riesgo de hepatotoxicidad y de miopatías. En el primer grupo encontramos a los antagonistas del calcio, ciclosporina, cimetidina, estrógenos, midazolam, quinidina, tacrólimo, terbinafina y warfarina. Forman parte del segundo grupo los macrólidos (claritromicina, eritromicina, troleandomicina), antifúngicos (itraconazol, ketoconazol y posaconazol), inhibidores de las proteasas (nelfinavir, ritonavir, saquinavir), antidepresivos (fluoxetina, fluvoxamina, nefazodona, sertralina) y otros hipolipemiantes (gemfibrocilo) (Lorenzo et al., 2012).

Amiodarona. En 2008 la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA) advirtió que se incrementaba el riesgo de rabdomiolisis cuando dosis superiores a 20 mg de simvastatina se combinaban con amiodarona (Food and Drug Administration, 2011).

Marot et al. (2011) describieron el caso de una rabdomiolisis severa inducida por simvastatina incrementada por la adición de amiodarona al tratamiento estatínico crónico previamente bien tolerado.

Por su parte, Ricaurte et al. (2006) estudiaron la aparición de otro caso de rabdomiolisis asociado a fallo renal y posible hepatotoxicidad en un hombre de 72 años que recibió amiodarona 200 mg/día y simvastatina 80 mg/día.

Diltiazem. La FDA solicitó a los productores de especialidades que contenían simvastatina que modificaran el etiquetado de éstas para indicar que los profesionales deben evitar prescribir dosis de simvastatina superiores a 40 mg si el paciente está recibiendo tratamiento con diltiazem, pues aumenta el riesgo de miopatía (Food and Drug Administration, 2011).

Ciclosporina A. Gumprecht et al. (2003) afirmaron que el uso concomitante de inhibidores de HMG-CoA-reductasa y ciclosporina A puede incrementar el riesgo de rabdomiolisis. Describieron el caso de una mujer de 35 años transplantada renal que desarrolló una rabdomiolisis después del tratamiento con simvastatina. Los pacientes transplantados renales tratados

con ciclosporina A y que además están recibiendo simvastatina como tratamiento hipolipemiante deben ser monitorizados cuidadosamente para controlar los niveles de ciclosporina A y evitar una posible toxicidad muscular.

Además, Keogh et al. (2000) observaron un riesgo de aparición de miositis de un 13,3 % en pacientes tratados con ciclosporina y simvastatina a una dosis de 20 mg/día.

Por su parte, Tong et al. (2005) describieron también un caso de rabdomiolisis de un paciente transplantado por mieloma múltiple después del uso concomitante de ciclosporina y simvastatina a dosis de 80 mg/día.

La ciclosporina y la simvastatina se metabolizan en el hígado y son sustratos del mismo citocromo P450, la isoenzima CYP3A4. La coadministración de ambas medicaciones se traduce en un incremento de los niveles de simvastatina que se correlaciona con un aumento del riesgo de desórdenes musculares.

Macrólidos: eritromicina y claritromicina. Molden y Andersson (2007) estudiaron el caso de dos hombres de 83 y 78 años de edad que estaban a tratamiento con simvastatina 80 mg/día. Una o dos semanas después de estar a tratamiento con eritromicina y claritromicina, respectivamente, fueron hospitalizados con sintomatología de mialgia, dolor muscular, incapacidad para levantar brazos y piernas, y niveles de creatina kinasa 60 veces por encima de los normales. El mecanismo de interacción fue la inhibición del metabolismo del citocromo P₄₅₀ y el bloqueo del transporte de simvastatina por fosfoglicoproteína causando una elevación en los niveles séricos de simvastatina.

Kantola (1998) estudió el efecto de la administración de eritromicina en la farmacocinética de simvastatina. Administró 1,5 mg/día de eritromicina a un grupo de jóvenes sanos durante 2 días. En el segundo día les administró 40 mg de simvastatina. Se midieron las concentraciones de simvastatina, simvastatina ácida y eritromicina durante 24 horas. La eritromicina elevó la C_{máx} de simvastatina 3,4 veces y el área bajo la curva de la concentración sérica de simvastatina frente al tiempo desde 0 hasta 24 horas, en 6,2 veces. Además aumentó la concentración máxima de simvastatina ácida en 5 veces y el área bajo la curva de concentración sérica de simvastatina ácida frente al tiempo en 3,9 veces. La conclusión de este estudio fue que debe evitarse la administración conjunta de eritromicina y simvastatina. Como alternativa también se puede reducir la dosificación de eritromicina en un 50 % o un 80 % cuando se utiliza una

dosis superior a 20 mg/día de simvastatina.

Antifúngicos: ketoconazol, itraconazol y posaconazol. Watkins et al. (2011) informaron del caso de un paciente de 64 años de edad que se encontraba a tratamiento con ketoconazol para el cáncer de próstata. También tomaba simvastatina y fenofibrato para el tratamiento de la dislipemia. Después de un incremento en la dosis de ketoconazol el paciente desarrolló rabdomiólisis y fallo renal agudo, con valores elevados de CK (> 32.000 UI/L) y creatinina sérica (4,2 mg/dl).

Ishigam et al. (2001) realizaron un estudio que consistía en la administración de forma concomitante de simvastatina e itraconazol. Los resultados de dicho estudio demostraron un incremento del área bajo la curva (AUC) de simvastatina, lo que se tradujo en un incremento de sus niveles plasmáticos y por consiguiente de su toxicidad.

Krishna et al. (2012) determinaron el efecto del posaconazol en la farmacocinética de simvastatina y midazolam. Realizaron un estudio en 35 voluntarios, a los que se les asignó una de estas 3 dosis de posaconazol por vía oral: 50, 100 o 200 mg. Todos los individuos recibieron una dosis única de midazolam (2 mg) el día 9, simvastatina (40 mg) en dosis única el día 6 y posaconazol en dosis única (50, 100 o 200 mg) en los días 1 al 7, también en dosis única. Además se administró posaconazol más midazolam (día 8), posaconazol solo (días 9 y 10), posaconazol más simvastatina (día 11) y posaconazol solo (días 12 y 13).

La administración de simvastatina conjuntamente con posaconazol incrementó de forma significativa la concentración máxima del AUC para simvastatina (un incremento de 5 a 11 veces sobre su valor normal). Este hallazgo confirma que el posaconazol es un potente inhibidor del CYP3A4 por lo que la simvastatina no debe ser administrada con éste fármaco.

Inhibidores de proteasas: nelfinavir, ritonavir, saquinavir. La hiperlipidemia es una complicación metabólica que se desarrolla en pacientes con tratamiento antirretroviral y se asocia preferentemente con los inhibidores de la proteasa. El grado de dislipemia en estos pacientes es a veces suficientemente severo como para requerir dosis máximas de estatinas.

Los distintos estudios farmacocinéticos que evalúan la interacción entre estatinas e inhibidores de la proteasa indican que la interacción es muy relevante y potencialmente muy peligrosa en el caso de simvastatina.

Bradley et al. (2002) informaron del primer caso de muerte asociado a rabdomiolisis de un paciente tratado con simvastatina y nelfinavir. El paciente también presentaba un historial de hiperlipidemia y enfermedad arterial coronaria. Estaba a tratamiento, al principio con simvastatina 10mg/día. Se incrementó la dosis a 80 mg/día, al ver que la primera dosis no era efectiva en el tratamiento de la hiperlipidemia. Unas semanas después de la iniciación del tratamiento con simvastatina a dosis elevada, el paciente comenzó a desarrollar una progresiva debilidad muscular. Los resultados del laboratorio confirmaron una rabdomiólisis, con valores de creatinina kinasa de 78.000 U/L.

El nelfinavir es un inhibidor de CYP3A4 y también es un sustrato para la glicoproteína P, transportador bidireccional de medicamentos ⁴⁷. La simvastatina es capaz de producir una inhibición de la glicoproteína P con un IC₅₀ ⁴⁸ de 9 µM.

Por su parte, Hsyu et al. (2001) administraron 20 mg/día de simvastatina a 32 pacientes sanos durante los primeros 14 días del estudio. Posteriormente, desde el día 15 al 28, administró nelfinavir (1250 mg/día). El estudio farmacocinético se realizó desde los días 14 hasta el 28. Se demostró que la administración de nelfinavir incrementa el área bajo la curva de simvastatina en un 505 % y su concentración máxima en un 517 %. La conclusión del estudio fue que debe evitarse la administración conjunta de ambos medicamentos.

Fichtenbaum et al. (2002) demostraron que la adición de ritonavir y saquinavir a un paciente tratado con simvastatina incrementa las concentraciones de ésta en 32,2 veces. La administración de simvastatina debe ser evitada en pacientes tratados con éstos fármacos.

Antidepresivos: nefazodona. La farmacoterapia para la depresión y la hipercolesterolemia puede resultar en una interacción medicamento–medicamento peligrosa en la que está implicado el citocromo P450. La simvastatina se metaboliza a través de la isoenzima 3A4 mientras que la fluvoxamina y nefazodona la inhiben.

Thompson y Samuels (2002) describen los síntomas que presentó un hombre de 72 años de edad tras la administración concomitante de simvastatina y nefazodona. El paciente refirió a las 2 semanas después de iniciar el tratamiento con simvastatina síntomas de debilidad, resfriado, fiebre y diagnóstico provisional de síndrome viral. Posteriormente los resultados del

⁴⁷Su inhibición puede llevar a un incremento de las concentraciones de los medicamentos. Se encuentra en la superficie de muchas células, incluyendo las células epiteliales intestinales, linfocitos y macrófagos.

⁴⁸Concentración de simvastatina que causa el 50 % de inhibición de la glicoproteína P.

test del laboratorio mostraron niveles de CK muy elevados.

Skrabal et al. (2003) también indicaron el caso de un paciente con rabdomiólisis que ocurrió después de que éste fuera tratado con simvastatina a dosis de 80 mg/día de forma concomitante con su tratamiento antidepresivo, nefazodona.

Antipsicóticos: risperidona. También han sido descritos casos de interacción entre simvastatina y el antipsicótico risperidona. Un paciente esquizofrénico a tratamiento con risperidona desarrolló rabdomiolisis en las extremidades inferiores debido a la administración conjunta de simvastatina. La risperidona interrumpió el metabolismo de la simvastatina debido a la interacción con el citocromo P450 y condujo a una elevación de sus niveles en sangre, generando la lesión muscular (Webber et al., 2004).

Vives et al. (2008) describieron el caso de un paciente que desarrolló rabdomiolisis e insuficiencia renal aguda secundaria a la interacción de simvastatina, ciclosporina A y risperidona en un paciente receptor de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. La ciclosporina A es un fármaco inmunodepresor que se metaboliza en el hígado a través del CYP3A4, por lo que administrado conjuntamente con simvastatina puede producir toxicidad muscular aguda. La asociación de risperidona, un antipsicótico atípico que también se metaboliza por el citocromo P450, tanto por la isoenzima 3A4 como por la 2D6, fue el posible desencadenante del cuadro de rabdomiolisis.

Otros hipolipemiantes: gemfibrocilo. Lóriga y Pérez (1998) ya consideraban que la administración de todos los fibratos puede producir miositis pero el riesgo era mayor si se asociaban con inhibidores de la HMG-COA-reductasa pudiéndose producir incluso miopatía grave.

Actualmente sabemos que nunca deberá realizarse la asociación de un inhibidor de la HMG-COA-reductasa con gemfibrocilo por el riesgo de aparición de importantes efectos adversos (Cumplido, 2010).

Zimetbaum et al. (1991) indicaron que la administración conjunta de gemfibrocilo e inhibidores de HMG-COA-reductasa debería hacerse con precaución por implicar esta asociación un importante riesgo de incidencia de miositis hiperlipidémica, además de rabdomiólisis.

Por otra parte, Backman et al. (2000) realizaron un estudio doble ciego, ramdomizado

y cruzado en voluntarios sanos, a los que administraron 600 mg de gemfibrocilo dos veces al día o placebo durante 3 días. En el tercer día ingirieron una dosis única de 40 mg de simvastatina. El área bajo la curva de simvastatina aumentó un 35 % y la de simvastatina ácida un 185 %. La semivida de la simvastatina se incrementó en un 74 % y la de simvastatina ácida fue de un 51 % mientras que la concentración máxima para simvastatina ácida aumentó un 112 %. Así pues el gemfibrocilo incrementa las concentraciones plasmáticas de simvastatina y en particular, de su forma activa, la simvastatina ácida, lo que sugiere que el mayor riesgo de miopatía producido por la asociación de los dos fármacos tiene al menos parcialmente un origen farmacocinético.

Fármacos inductores de la vía del CYP3A4

Este grupo de fármacos disminuye los niveles plasmáticos y la efectividad de la simvastatina. Destacan los barbitúricos, carbamazepina, fenitoína, nafcilina y rifampicina (Lorenzo et al., 2012).

Rifampicina. Kirklund et al. (2000) realizaron un estudio ramdomizado y cruzado en voluntarios sanos que recibieron durante 5 días un tratamiento de 600 mg/día de rifampicina o placebo. Al sexto día se les administró una dosis única de 40 mg de simvastatina por vía oral. Se produjo una reducción del área bajo la curva de simvastatina y simvastatina ácida en un 87 % y un 93 %, respectivamente. Rifampicina no tuvo un efecto significativo en la semivida de eliminación de simvastatina y simvastatina ácida.

Carbamazepina. Ucar et al. (2004) valoraron el efecto de la administración de carbamazepina en un estudio ramdomizado y cruzado de dos fases en el que doce voluntarios sanos tomaron carbamazepina durante 14 días (600 mg diarios a excepción de los primeros 2 días, que tomaron 200 mg) o placebo. En el día 15 cada sujeto ingirió 80 mg de simvastatina. El área bajo la curva de simvastatina y simvastatina ácida se redujo en un 75 % y en un 82 %, respectivamente. Por otra parte los valores medios de la concentración máxima de simvastatina y simvastatina ácida se redujeron en un 68 % y la semivida de simvastatina en un 62 %. La carbamazepina produce estas modificaciones probablemente por una inducción del metabolismo de la simvastatina y simvastatina ácida.

Otros fármacos: Niacina. En marzo de 2010 la FDA aprobó un cambio en el etiquetado de las especialidades comercializadas en EE.UU. que contenían simvastatina basándose en los resultados de un ensayo clínico en curso, «*The Heart Protection Study 2*» (HPS-2), incluyendo que los pacientes de descendencia china no deben consumir dosis de 80 mg de simvastatina en combinación con niacina debido a una mayor incidencia de miopatía. Se desconoce si otros asiáticos tienen el mismo riesgo (Food and Drug Administration, 2011).

Interacciones con alimentos

La administración concomitante de simvastatina con alimentos puede producir alteraciones en su farmacocinética y farmacodinamia resultando en un alto riesgo de reacciones adversas en algunas ocasiones o disminución de la actividad farmacológica en otras (Andrés et al., 2004).

Ácidos grasos insaturados

Existe muy poca información sobre la relación entre la ingesta de aceites insaturados y los efectos de simvastatina a pesar de que los aceites culinarios contribuyen con más del 50 % al total de grasas ingeridas en la dieta. Se sabe que las dietas elevadas en grasas tienden a elevar los niveles de colesterol (Vaquero et al., 2010).

De acuerdo con Dietschy (1998), los ácidos grasos insaturados (ácido oleico más que ácido linoleico) incrementan la expresión genética de los receptores para c-LDL manteniendo elevada la cantidad y la actividad de estos receptores y decreciendo la concentración plasmática de c-LDL.

Sánchez-Muñiz et al. (2009) realizaron un estudio para determinar el efecto modulador de dos tipos de aceites culinarios (aceite de oliva y aceite de girasol) sobre los efectos hipolipemiantes de la simvastatina en hombres con hipercolesterolemia severa y alto riesgo cardiovascular. Los resultados demostraron que los valores de CT, los ratios CT/c-HDL y c-LDL/c-HDL y el riesgo cardiovascular disminuyeron significativamente en el grupo que consumía aceite de oliva. Los resultados sugieren que aunque simvastatina es un fármaco hipolipemiente muy efectivo, la inclusión de aceite de oliva frente a aceite de girasol mejora dicho efecto en pacientes con riesgo cardiovascular. La semivida de la simvastatina podría estar reducida debido a un efecto activador del citocromo cuando la simvastatina es consumida por pacientes que

siguen una dieta rica en aceite de girasol respecto a la misma dieta preparada con aceite de oliva.

La simvastatina y los ácidos grasos $\omega 3$ tienen efectos diferentes pero complementarios sobre el perfil lipídico. Mientras que la simvastatina reduce fundamentalmente las concentraciones de colesterol (Alberts, 1988), los ácidos grasos $\omega 3$ disminuyen los niveles de triglicéridos plasmáticos especialmente en individuos con hipertrigliceridemia (Harris et al., 1997). Existen estudios que corroboran que la administración conjunta de simvastatina y ácidos grasos $\omega 3$ es segura, efectiva y bien tolerada en el tratamiento de una dislipemia.

Nordøy et al. (1998) asociaron los ácidos grasos $\omega 3$ con simvastatina y comprobaron que había una disminución en los niveles de colesterol y triglicéridos plasmáticos mientras que las concentraciones de c-HDL no presentaron cambios. Los autores del estudio concluyeron que la combinación de simvastatina y ácidos grasos $\omega 3$ tiene un efecto aditivo y posibles consecuencias clínicas beneficiosas si se asocian en terapéutica.

En otro estudio realizado por Durrington et al. (2001) en pacientes con enfermedad cardíaca coronaria tratados con simvastatina (10-40 mg/día), la adición de ácidos grasos $\omega 3$ disminuyó de forma significativa los niveles séricos de triglicéridos hasta un 35 % después de 48 semanas de tratamiento. Además las concentraciones de c-VLDL disminuyeron significativamente, y los niveles de c-HDL aumentaron un 18 % después de 18 semanas de tratamiento.

Zumo de pomelo

Lilja et al. (1998) realizaron un estudio en voluntarios sanos y comprobaron que la administración con jugo de pomelo produjo una C_{\max} 9 veces más alta y una AUC 16 veces mayor para simvastatina que en ausencia del mismo. También simvastatina ácida varió sus parámetros farmacocinéticos con elevación de la C_{\max} y AUC 7 veces respecto a la administración con agua. El mecanismo probable de esta interacción parece ser la inhibición del metabolismo de “primer paso” mediado por la isoenzima CYP3A4. En un estudio posterior se corroboraron estos resultados (Lilja et al., 2000).

Existen numerosos compuestos activos en el zumo de pomelo. Éstos incluyen compuestos flavonoides (por ejemplo, naringenina, naringina, quercetina) y no flavonoides (6',7'-dihydroxibergamotina). A estos componentes se les atribuye la acción inhibitoria específica del jugo de pomelo (Andrés et al., 2004).

Fibra dietética

Aunque los efectos de la fibra dietética sobre los niveles de colesterol han sido profundamente investigados y sus beneficios probados, se sabe que su administración conjunta con simvastatina es capaz de potenciar los efectos de ésta (Vaquero et al., 2010).

Moreyra et al. (2005) evaluaron el efecto de la administración de semillas de *Plantago ovata* junto con 10 mg de simvastatina sobre los niveles de c-LDL. Se comprobó que la administración de fibra dietética junto con 10 mg de simvastatina es tan efectiva como la administración de 20 mg de simvastatina sola.

Contraindicaciones

Se recomienda que la mujer utilice medidas anticonceptivas eficaces durante el tratamiento y que lo suspenda si queda embarazada. Tampoco puede utilizarse simvastatina durante el período de lactancia y en pacientes con hepatopatías o nefropatías graves (Lorenzo et al., 2012).

2.5.6. Influencia genética sobre la acción farmacológica de la simvastatina

Existe una considerable variación interindividual en respuesta a la terapia con estatinas, lo que ha llevado a numerosos investigadores a estudiar la repercusión a nivel genético que pudiera tener la administración de éstos fármacos. Por ejemplo, se ha demostrado que la atorvastatina afecta a la expresión de diversos genes envueltos en diferentes procesos de homeostasis, inflamación, apoptosis y aterosclerosis (Wibaut-Berlamoint et al., 2004). Además, genes que codifican la respuesta inflamatoria de proteínas, como la proteína orosomucoide y el receptor para la IL-18, están regulados de forma moderada por rosuvastatina (Schmidt et al., 2008). Por otra parte también se sabe que las cascadas del complemento y de la coagulación, la línea celular hematopoyética y las rutas metabólicas del ácido araquidónico están asociadas con la actividad farmacológica de diversas estatinas (Llaverias et al., 2008).

También existen en la bibliografía diversas investigaciones que evalúan la influencia de la variabilidad genética entre los distintos individuos sobre la acción farmacológica de las estatinas. Estos estudios demuestran que existe una variabilidad interindividual en la respuesta frente a las estatinas incluyendo dentro de esta variabilidad genes involucrados tanto en las

rutas metabólicas de los lípidos como las no lipídicas. Por ejemplo, el gen HMGCR, que codifica para la HMG-COA-reductasa interviene en la respuesta farmacológica de las estatinas, así como genes que están relacionados con el metabolismo del colesterol hepático o en el metabolismo y transporte de lipoproteínas plasmáticas. Dentro de este grupo encontramos genes como el LDLR ⁴⁹, CETP y apo-E ⁵⁰ (Peters et al., 2009).

Peters et al. (2011) seleccionaron un total de 209 SNP y se analizaron por su posible intervención en la vía implicada en la disminución de los niveles de colesterol por acción de las estatinas. Los genes que estuvieron implicados en la interacción con el tratamiento estatínico fueron los siguientes: SCARB1 *rs4765615* mostró la interacción más significativa con un efecto más beneficioso en cuanto a la disminución de los niveles de colesterol por acción de las estatinas para los portadores de los alelos *gg* y *ag*, que para los portadores homocigóticos del alelo *aa*. También PCSK9 *rs505151*, ABCG5, LRP1, LIPC ⁵¹, ABCA1, SOAT1 y PPARG.

Por su parte, Undas et al. (2009) determinaron que la síntesis de trombina así como el daño vascular y la disminución de los niveles de trombina generado por la simvastatina en los pacientes con enfermedad cardíaca isquémica son, por lo menos en parte, determinados genéticamente por la variante del alelo +5466A>G (*rs3917643*) del gen que codifica para el factor tisular (TF) ⁵². Existe una mayor velocidad de formación de trombina por efecto de la administración de simvastatina en los individuos portadores este alelo que en aquellos portadores del genotipo +5466AA. Esto se debe a que los portadores del alelo +5466G son más sensibles a la inhibición de la isoprenilación de proteínas de señalización que están implicadas en la expresión del TF, principal responsable de los efectos que generan una disminución de los niveles de trombina por acción de las estatinas.

Vohl et al. (2002) desarrollaron un estudio en el que se demuestra que la influencia de las dosis administradas de simvastatina y el polimorfismo de la apo-E en la respuesta de las moléculas de c-LDL por efecto de la administración de simvastatina está condicionada por la naturaleza del receptor para las c-LDL. Este estudio se realizó en 64 adolescentes (47 tratados

⁴⁹Codifica para el receptor c-LDL.

⁵⁰Codifica para la apolipoproteína E.

⁵¹Este gen codifica para la lipasa hepática y puede afectar a la respuesta estatínica porque interviene en la modulación del tamaño y densidad de las moléculas de c-LDL.

⁵²Es una glicoproteína de membrana presente en los fibroblastos de la pared de los vasos sanguíneos y en otras células (por ejemplo, los monocitos). Cuando entra en contacto con la sangre desencadena la cascada de coagulación por la vía extrínseca.

con simvastatina frente a 17 controles) que presentaban hipercolesterolemia familiar heterocigótica. Estos individuos se clasificaron en función de la clase de mutación del gen que codifica para el receptor de las moléculas de c-LDL. Un grupo de individuos tenían una mutación que codificaba para un receptor de las c-LDL defectuoso, y el otro grupo tenía otra mutación que codificaba para que no existiera receptor para las moléculas de c-LDL. La prevalencia de los alelos de apo-E era similar en los dos grupos. El grupo de pacientes defectuoso en el receptor para las c-LDL respondió al tratamiento con simvastatina en un 31,2% de descenso en los niveles de c-LDL. En el grupo que no presentaba receptor el descenso fue del 39,3%. Las respuestas medias de los dos grupos al tratamiento con simvastatina con respecto a los niveles de apo-B, apo-A1 y c-HDL fueron similares. La respuesta al tratamiento con simvastatina fue proporcional a la dosis administrada de simvastatina expresada en mg/Kg/día sólo en los individuos con receptor para las c-LDL defectuoso, contribuyendo en un 39% a la variación de los niveles de colesterol total en este grupo. El genotipo apo-E fue responsable del 22,9% de la variación de los niveles de c-LDL plasmático en los individuos que no presentaban receptor para las c-LDL, con una contribución de un 19,6% a esta variación. Los portadores del alelo E2 mostraron mayor disminución de los niveles de c-LDL que los portadores de los alelos E3 y E4.

La variación de respuesta de las moléculas de c-LDL para los distintos genotipos puede ser debida a que cuando se sobreexpone la proteína mutada del receptor de las c-LDL ésta interacciona con la proteína normal del mismo receptor y con sus mecanismos celulares inhibiendo de forma parcial su función normal.

El 50% de la variación en la respuesta de los niveles de c-LDL en heterocigóticos con un receptor para las c-LDL defectuoso puede ser explicado por la dosis administrada de simvastatina. Una posible explicación para esto es que la sobreexpone del alelo mutado para el receptor de las c-LDL defectuoso sea proporcional a la dosis de simvastatina.

Además, los resultados de Leitersdorf et al. (1993) muestran que aproximadamente un 20% de la respuesta de las moléculas de c-LDL a estatinas es explicada por el genotipo para el receptor de las c-LDL.

También se ha señalado que la existencia de polimorfismos genéticos pueden influir en el metabolismo y transporte de simvastatina y en la posible toxicidad generada por ésta. Se propone por tanto que los síntomas miopáticos generados por las estatinas se deben a una

interacción sinérgica entre factores genéticos y farmacológicos. Niemi et al. (2011) encontraron que un SNP del gen *SLCO1B1* codifica para un transportador de fármacos aniónico que se encuentra localizado en la cara sinusoidal del hepatocito, principal transportador interno de varias estatinas. Éste SNP tiene una fuerte unión con el SNP del alelo *SLCO1B1*15* que está asociado a niveles plasmáticos elevados de estatinas debido a un transporte deficitario (Niemi, 2010). Además un estudio llevado a cabo en individuos con diabetes tipo II que estaban tratados con estatinas y además eran portadores del alelo *SLCO1B1*15* estuvo asociado a un riesgo significativo de incremento de intolerancia a estatinas determinado por anomalías en las pruebas bioquímicas realizadas a los distintos individuos así como variaciones en las prescripciones (Donnelly et al., 2011).

También se han desarrollado estudios en animales para demostrar la variabilidad interindividual en la respuesta a simvastatina.

Wang et al. (2002) realizaron un estudio para comparar el efecto de la administración de simvastatina en el desarrollo de la aterosclerosis entre dos modelos animales: ratones deficientes en el receptor para lipoproteínas c-LDL (LDLR-KO) y ratones deficientes en el receptor para la apo-E (apo E-KO). También se estudiaron los efectos de la simvastatina en la función endotelial y en la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS-3). La administración de la misma dosis de simvastatina a ambos grupos de ratones genéticamente diferentes generó efectos opuestos. En los ratones LDLR-KO la administración de simvastatina disminuyó los niveles de colesterol sérico y produjo una regresión en la placa aterosclerótica. También produjo una mejora en la vasorrelajación endotelial dependiente de NO y un incremento en la expresión de NOS-3. No hubo cambios en la vasorelajación endotelial mediada por óxido nítrico.

Dowell et al. (1995) realizaron un estudio en conejos WHHL⁵³ homocigóticos y heterocigóticos para definir la progresión de la aterosclerosis y para determinar la capacidad de simvastatina para atenuar la progresión de la enfermedad. La administración de simvastatina en homocigóticos no generó ningún cambio en los niveles de colesterol mientras que en los conejos heterocigóticos la administración de simvastatina tuvo un importante efecto hipolipemiante en individuos jóvenes (3-6 meses), pero no en más mayores. Debido a que la simvastatina actúa en parte incrementando la síntesis de receptores para moléculas de c-LDL, su administración a heterocigóticos en los que sólo hay un gen defectuoso incrementa

⁵³Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits

igualmente la síntesis de receptores para c-LDL provocando efecto hipolipemiente. Por el contrario, en individuos homocigóticos donde están los dos genes defectuosos la estimulación del incremento de la síntesis de receptores para las moléculas de c-LDL no genera ningún efecto.

También se examinó la capacidad contráctil de la aorta torácica en respuesta a fenilefrina y la relajación endotelio-dependiente en respuesta a carbacrol en los dos grupos de conejos. La administración de simvastatina fue capaz de retardar de forma significativa la pérdida de función vasoactiva asociada al desarrollo y la progresión de la enfermedad aterosclerótica en conejos jóvenes y adultos heterocigóticos. Esta tendencia también se observó en jóvenes homocigóticos, pero no en adultos homocigóticos WHHL.

3.1. Obtención de las muestras

Para la realización de este estudio se utilizaron 48 conejos de raza neozelandés blanco, cuyos pesos oscilaban entre 1,750 y 2,350 Kg. Siguiendo los requerimientos del *Real Decreto 53/2013*, los animales se instalaron en jaulas individuales que permitían separar las heces en recipientes inferiores, fuera de su alcance. Las condiciones medioambientales fueron las siguientes: temperatura, $19\pm 2^{\circ}\text{C}$; humedad relativa, $55\pm 10\%$ y fotoperíodos de 12 horas. La alimentación se hizo con pienso preparado especialmente para los conejos y disponían de agua *ad libitum*. En la figura 3.1 se muestran las jaulas en las que estaban instalados los conejos durante todo el ensayo.

Todos los animales utilizados estuvieron bajo las condiciones descritas desde una semana antes de comenzar la experiencia hasta su finalización. Para llevar a cabo el estudio y poder cumplir los objetivos propuestos, los animales se distribuyeron al azar en 4 lotes, de la siguiente forma:

1. Grupo control: Este grupo se alimentó con pienso estándar, que presentaba la siguiente composición: proteínas 16,5 %, grasas 3,4 %, fibra 15,5 %, cenizas 7,2 %, almidón 19,3 %, azúcares 4,5 %, vitamina A 15000 UI/kg, vitamina D₃ 1100 UI/Kg, vitamina E 100 mg/kg, vitamina K₃ 5 mg/kg y cobre 5 mg/kg (Ssniff–Alemania).
2. Grupo colesterol: El pienso utilizado para alimentar a este grupo de conejos era pienso estándar enriquecido con un 0,20 % de colesterol.
3. Grupo Sideritis: El grupo de conejos que se alimentó con la planta en estudio fue alimen-

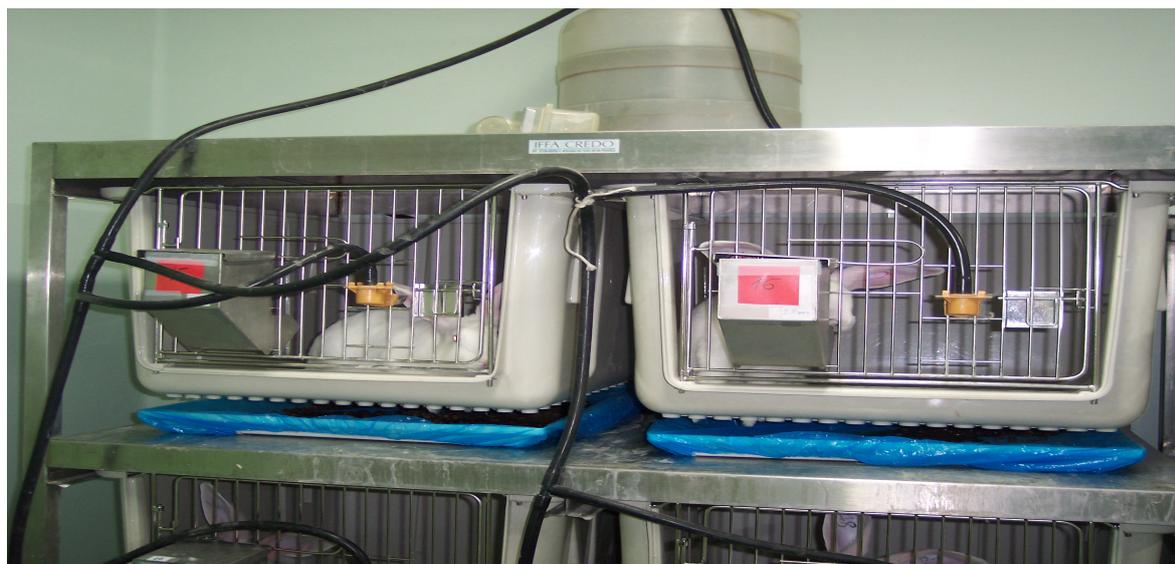


Figura 3.1: Jaulas en las que se encontraban instalados los conejos

tado con pienso estándar enriquecido con un 0,20 % de colesterol, al que se le añadió la planta *Sideritis hyssopifolia* L. subsp. *hyssopifolia*. El pienso se dosificó con ésta planta a razón de 2,36 g de *Sideritis hyssopifolia* L. subsp. *hyssopifolia*/150 g de pienso. Esta dosis fue calculada a partir de los datos obtenidos en un estudio previo. En él se determinó la actividad antioxidante «in vitro» de ésta planta comparándolos con la actividad antioxidante del ácido ascórbico, expresada como AEAC o capacidad antioxidante equivalente a la del ácido ascórbico en mg de ácido ascórbico/100 g.

4. Grupo Simvastatina: En este caso el pienso estándar estaba enriquecido con un 0,20 % de colesterol. Se añadió simvastatina en una dosis de 20 mg/kg. Esta dosis se calculó a partir de los datos recogidos en la bibliografía.

El pienso de los animales se controlaba diariamente. Se les proporcionaba 150 g de pienso diario y al día siguiente, antes de distribuir la comida, se comprobaba si habían ingerido toda la ración administrada. Si quedaba algo, se retiraba y se anotaba la cantidad consumida.

Los conejos se mantuvieron 10 semanas en el animalario recibiendo el pienso correspondiente (figura 3.2). Cada semana se les hacía un control del peso.

Una vez concluido el período de aclimatación (1 semana) a todos los animales se les extrajo sangre (semana 0). Posteriormente a las 5 semanas (semana 1), y a las 10 semanas (semana 2). Para ello se introducía al animal en un cepo, extrayendo la sangre de la vena marginal de la oreja mediante la colocación de una palomilla, retirando en primer lugar su capuchón,



Figura 3.2: *Piensos administrados a los conejos*

e introduciéndola en la vena con el bisel hacia arriba. Esta sangre se depositaba en tubos que contenían citrato o EDTA. El volumen extraído era de 3 ml de sangre para los tubos con citrato y 8 ml para los tubos con EDTA. Las muestras de sangre se centrifugaban durante 20 minutos a 3000 r.p.m. para obtener el suero (tubos EDTA) o el plasma (tubos citrato). Una vez centrifugados los tubos, se recogía la interfase amarillenta superior correspondiente al suero o al plasma, con ayuda de una pipeta pasteur. El plasma o suero era transferido a unos tubos eppendorf® de 1,5 ml (suero) y de 0,5 ml (plasma). Las muestras se almacenaban en un congelador donde se mantenían a - 80 °C hasta el momento de su procesamiento.

Para evitar errores todos los tubos se rotulaban según el número de animal, la semana de extracción y su contenido siguiendo el procedimiento recogido en la figura 3.3.

Los tubos eppendorf®, a su vez, se introducían en botes, que se rotulaban en función del número de animal y la semana de extracción. Cada bote contenía, por regla general, cuatro tubos eppendorf de 1,5 ml con plasma y 3 tubos eppendorf de 0,5 ml con suero (figura 3.4).

Los botes se almacenaban a su vez en cajas, en las que se indicaba el grupo de animales a los que pertenecían las muestras y la semana de extracción. La distribución de las cajas se muestra en la figura 3.5.

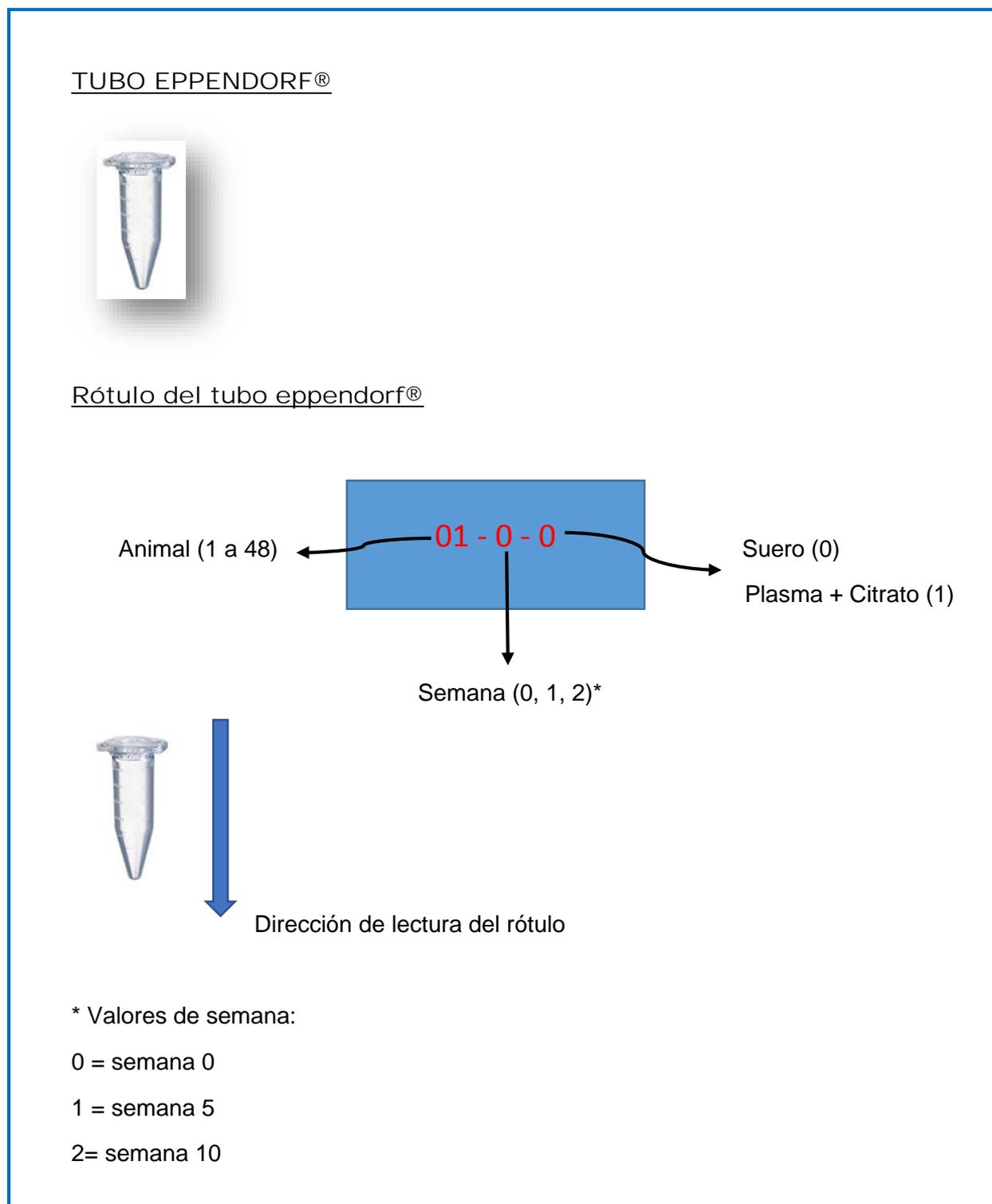


Figura 3.3: Rotulación de los tubos eppendorf® para almacenar las muestras de suero y plasma de los conejos

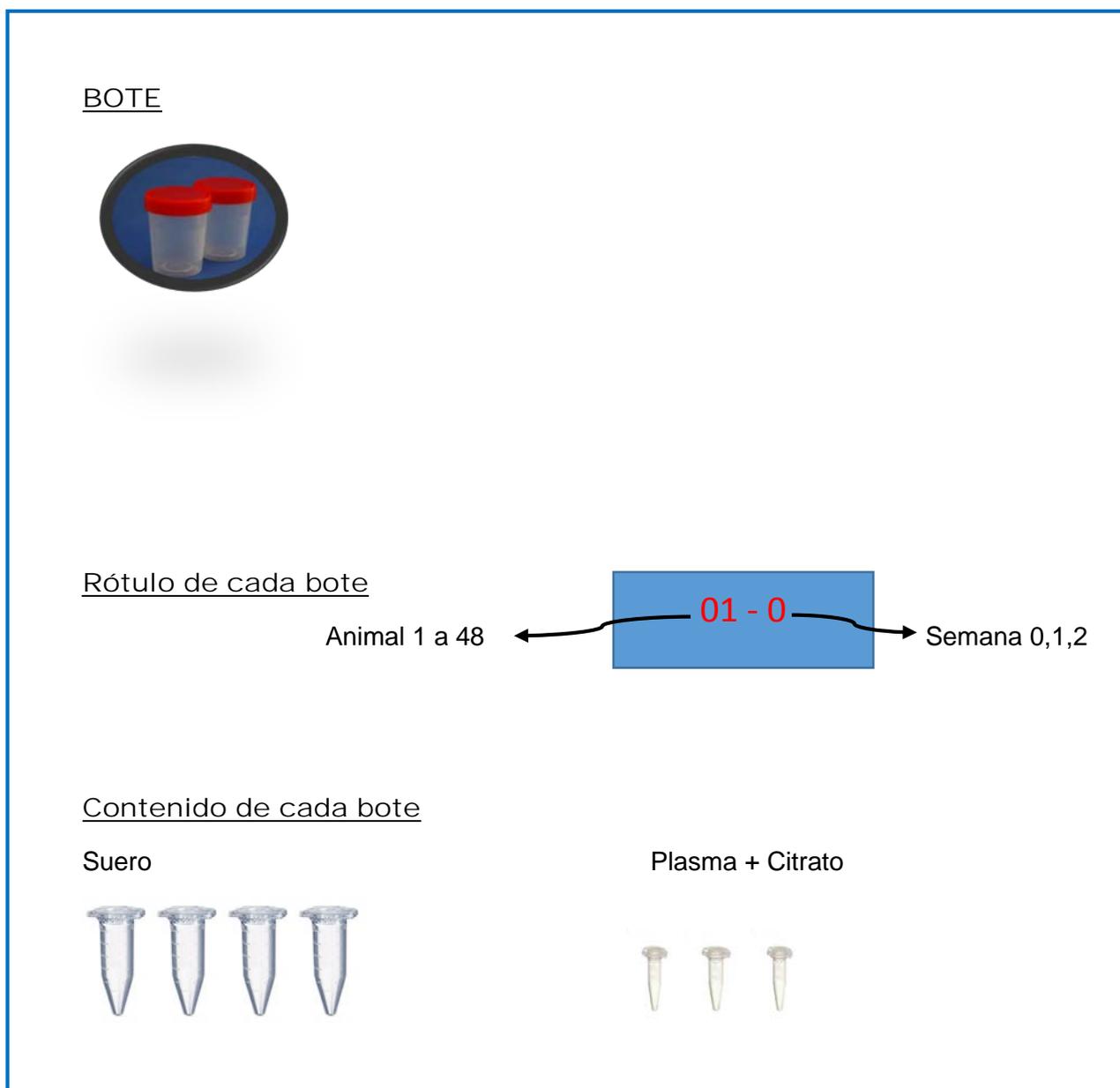


Figura 3.4: *Contenido y rotulación de los botes de almacenamiento de las muestras de cada animal*

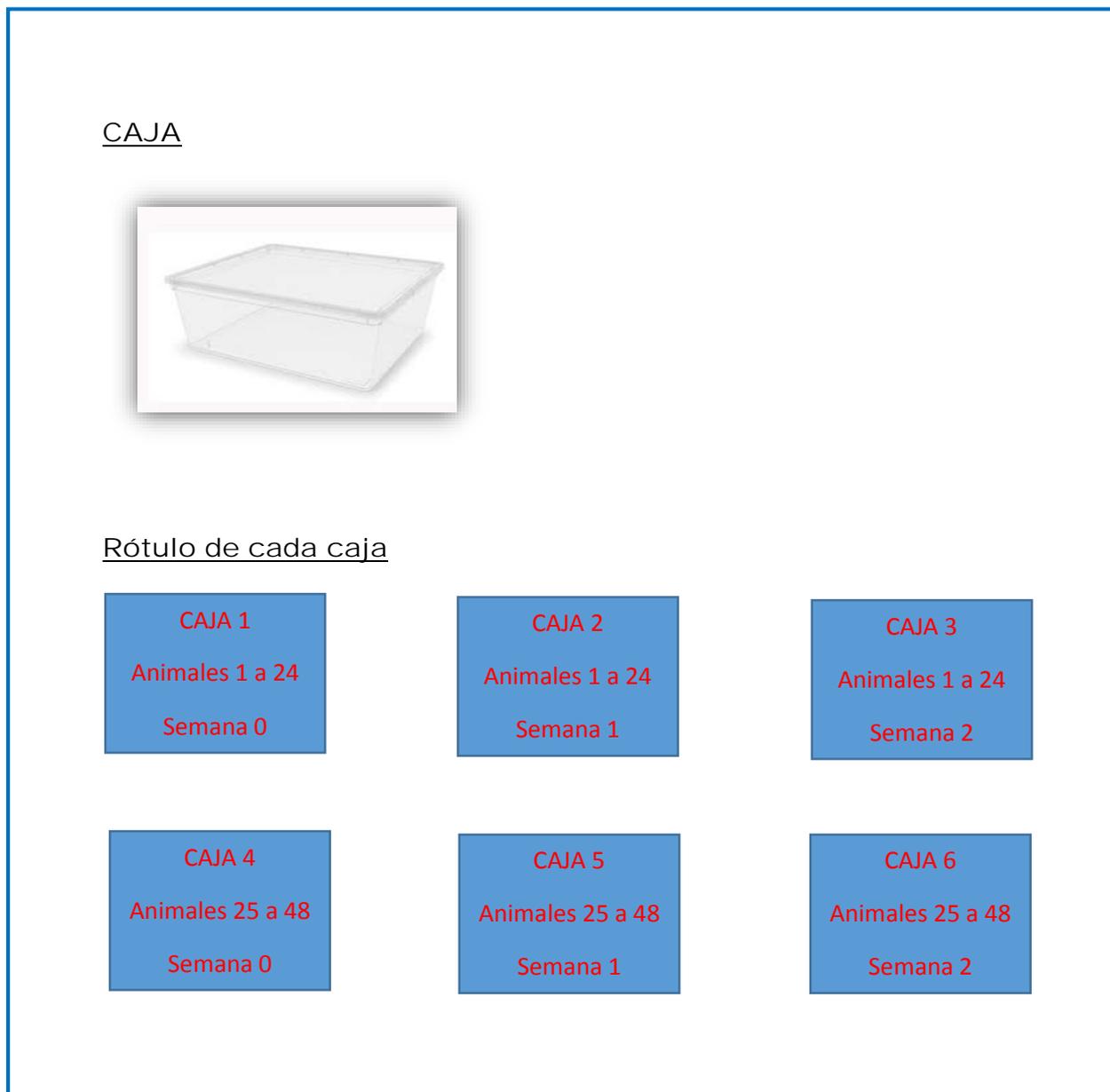


Figura 3.5: Rotulación de las cajas que contenían los botes donde se almacenaban las muestras de suero y plasma

3.2. Determinación de parámetros bioquímicos

A partir de las muestras séricas obtenidas de cada conejo se realizó la medición de distintos parámetros correspondientes al perfil lipídico del animal: CT, c-HDL, c-LDL, TG y apo-B. La cuantificación de dichos parámetros fue determinada mediante la utilización de distintos kits de diagnóstico basados en reacciones de coloración.

3.2.1. CT

La determinación de colesterol total en suero se realizó mediante la utilización del kit Colesterol MR, de *Linear Chemicals*. El kit incluye dos reactivos, R1 o monoreactivo y calibrador o patrón de colesterol.

El monoreactivo está formado por PIPES (ácido 1,4 piperazina-N,N'-dietanosulfónico) 200 mmol/l pH 7,0, colato sódico 1 mmol/l, colesterol esterasa > 250 U/L, colesterol oxidasa > 250 U/L, peroxidasa > 1 KU/L, 4-aminoantipirina 0,33 mmol/l, fenol 4 mmol/l, tensioactivos no-iónicos 2 g/l (p/v) y biocidas. La composición del calibrador es de 200 mg/dl (5,18 mmol/l) de colesterol.

Este kit emplea tres enzimas para la determinación de colesterol:

1. *Colesterol esterasa*, que degrada el colesterol esterificado a colesterol y ácidos grasos.
2. *Colesterol oxidasa*, que oxida el colesterol formando colesteno y agua oxigenada.
3. *Peroxidasa*, que actúa sobre la mezcla de fenol y 4-aminoantipirina que se encuentran presentes en el monoreactivo y dan lugar a la formación de un compuesto coloreado (quinonaimina) proporcional a la concentración de colesterol en sangre.

A partir del patrón inicial (concentración de colesterol de 200 mg/ml) se preparó una dilución 10 de 20 mg/dl (D/10). Se calcularon posteriormente los volúmenes de patrón inicial o de D/10 que sería necesario utilizar para obtener los distintos patrones, que nos servirán para construir la recta de calibrado.

En el cuadro 3.1 se muestran los patrones (CP-1...CP-6), así como su concentración (mg/dl) y los volúmenes (μ l) requeridos de patrón inicial o D/10 para obtenerlos.

Una vez que teníamos los patrones se procedía a la determinación del colesterol. Para ello se añadían 10 μ l de patrón a una cubeta de plástico de 1 cm de paso de luz. Posteriormente

Patrón	Concentración (mg/ml)	Volumen (μ l)
CP-1	50	25 (D/10)
CP-2	70	36 (D/10)
CP-3	150	80 (D/10)
CP-4	300	15 (Patrón inicial)
CP-5	450	23 (Patrón inicial)
CP-6	600	30 (Patrón inicial)

Tabla 3.1: Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de CT

Patrón	Concentración de colesterol (mg/mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	\bar{X}	D.E.	C.V.
CP-1	50	0,07	0,08	0,08	0,07	0,08	0,00	0,04
CP-2	70	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,00	0,01
CP-3	150	0,25	0,25	0,26	0,25	0,25	0,00	0,01
CP-4	300	0,48	0,51	0,53	0,52	0,51	0,02	0,03
CP-5	450	0,74	0,76	0,78	0,79	0,77	0,02	0,03
CP-6	600	0,99	1,04	1,03	0,99	1,01	0,02	0,02

Tabla 3.2: Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para CT

se añadió en cada una de las cubetas 1 ml de monoreactivo manteniéndose después de mezclado 10 minutos a temperatura ambiente. Pasado éste tiempo se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Hitachi UV/VIS a una longitud de onda de 500 nm. Se realizaron 4 medidas de absorbancia para cada patrón (A₁... A₄), reflejados en la tabla 3.2. A partir de los valores obtenidos, se construyó la recta de calibrado (figura 3.6).

La ecuación de la recta de calibrado obtenida para el colesterol total fue $a = 0,0017c - 0,0101$, donde c =concentración de colesterol total y a = absorbancia.

La determinación de la concentración de colesterol en las muestras siguió el mismo procedimiento que para los patrones.

Se realizaron 3 mediciones de absorbancia por cada conejo, A₀, A₁ y A₂, correspondientes a las semanas 0, 1 y 2, respectivamente. Estos valores de absorbancia extrapolados a la ecuación de la recta de calibración, nos permitió calcular las distintas concentraciones de colesterol total correspondientes a cada una de las muestras, expresadas en mg/ml.

3.2.2. c-HDL

La determinación de c-HDL en suero se realizó mediante el kit Colesterol-HDL directo, de *Linear Chemicals*. Este kit está formado por tres reactivos:

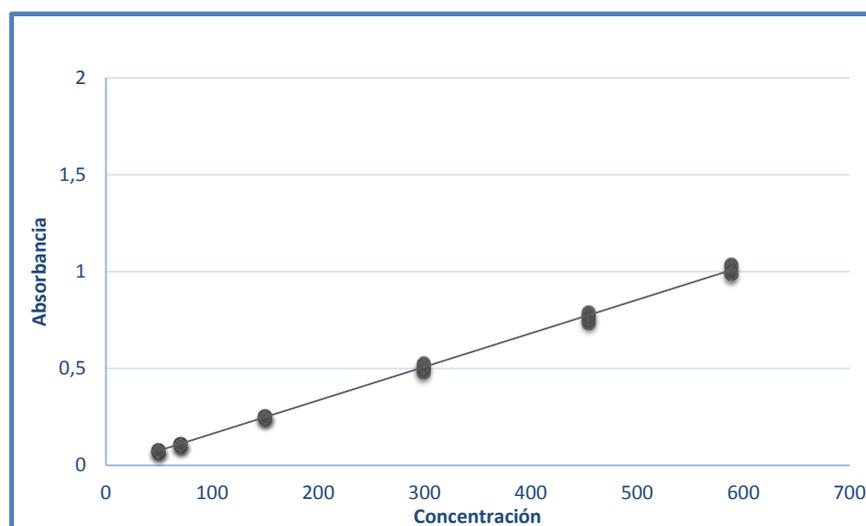


Figura 3.6: Recta de calibrado obtenida con los patrones de CT

- R1 (Reactivo 1). Formado por los siguientes componentes: Tampón MES (ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico) pH 6,5, TODB N,N-Bis (4-sulfobutil)-3-metilnilina, ácido polivinil sulfónico (PVS), polietilenglicol metil éter (PEGME), $MgCl_2$, detergentes y EDTA.
- R2 (Reactivo 2). Tampón MES (ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico) pH 6,5, colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa, 4-aminoantipirina y detergentes.
- Patrón o calibrador: tiene una concentración de c-HDL conocida, 52 mg/dL.

En el método de determinación de c-HDL se utilizan distintos reactivos, como el ácido polivinil sulfónico (PVS) y polietilenglicol metil éter (PEGME), que reaccionan con las fracciones de c-LDL, c-VLDL y quilomicrones (QM), quedando bloqueada su actividad frente a los enzimas *colesterol oxidasa* (CHOD) y *colesterol esterasa* (CHER). Estas enzimas reaccionan selectivamente con la fracción c-HDL, liberando H_2O_2 , neutralizada mediante una reacción de Trinder. Se forma al final de la adición de los dos reactivos una quinona, con un color característico proporcional a la concentración de c-HDL de la muestra.

A partir de este patrón inicial (concentración de 52 mg/dl) se preparó una dilución 10 (D/10) de 5,2 mg/dl. Se calcularon posteriormente los volúmenes de patrón inicial o de D/10 que sería necesario utilizar para obtener distintos patrones, que nos servirán posteriormente para construir la recta de calibrado. En el cuadro 3.3 se muestran los distintos patrones (HP-1...HP-5), así como su concentración (mg/dl) y los volúmenes requeridos (μ l) de patrón inicial

Patrón	Concentración (mg/mL)	Volumen (μ L)
HP-1	20	40 (D/10)
HP-2	30	60 (D/10)
HP-3	40	80 (D/10)
HP-4	60	125 (D/10)
HP-5	80	15 (Patrón inicial)

Tabla 3.3: Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de c-HDL

Patrón	Concentración de c-HDL (mg/mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	\bar{X}	D.E.	C.V.
HP-1	20	0,06	0,06	0,07	0,07	0,06	0,00	0,03
HP-2	30	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00	0,03
HP-3	40	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,01	0,10
HP-4	60	0,16	0,17	0,17	0,18	0,17	0,01	0,05
HP-5	80	0,26	0,25	0,26	0,23	0,25	0,01	0,04

Tabla 3.4: Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para c-HDL

o D/10 para obtenerlos.

Una vez preparados los patrones se procedió a la determinación de las concentraciones de c-HDL. Para ello se añadían 10 μ l de patrón en una cubeta de plástico de 1 cm de paso de luz. Posteriormente, se añadió en cada una de las cubetas 750 μ l de R1 manteniéndose después de mezclado 5 minutos en un baño termostaticado a 37°C. Transcurrido éste tiempo se procedió a la adición de 250 μ l de R2, homogeneizando y reservando de nuevo en el mismo baño a 37°C. De nuevo, 5 minutos más tarde se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Hitachi UV/VIS a una longitud de onda de 600 nm. Se realizaron 4 medidas de absorbancia para cada patrón (A₁... A₄), reflejados en el cuadro 3.4. A partir de los datos de absorbancia obtenidos se construyó la recta de calibrado (figura 3.7).

La ecuación de la recta obtenida para el c-HDL fue $a = 0,0032c - 0,0074$, siendo c =concentración de c-HDL y a =absorbancia.

A continuación se midió la absorbancia correspondiente a las distintas muestras siguiendo el mismo procedimiento que para los patrones. Se realizaron 3 mediciones de absorbancia por cada conejo, A₀, A₁ y A₂, correspondientes a la semana 0, 1 y 2, respectivamente. La extrapolación de éstos valores de absorbancia extrapolados en la ecuación de la recta de calibración, nos permitió calcular las distintas concentraciones de c-HDL correspondientes a cada una de las muestras, expresadas en mg/ml.

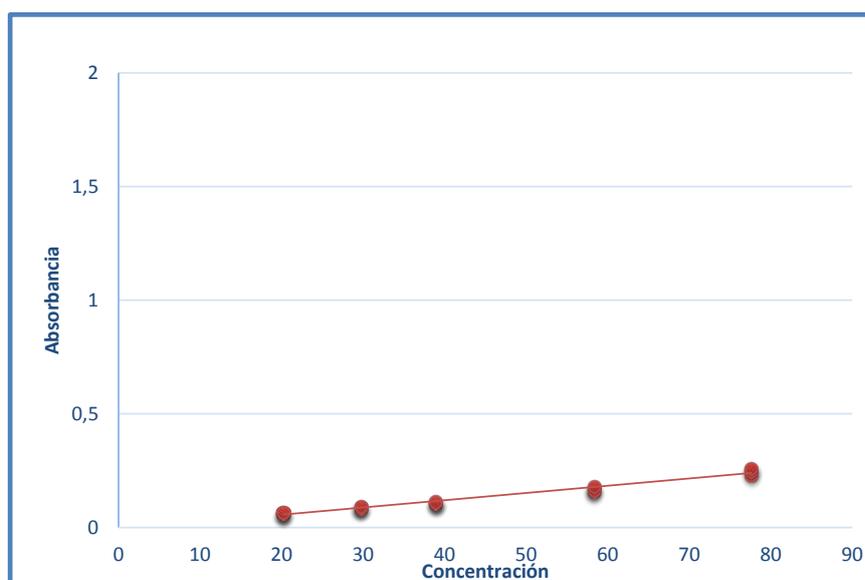


Figura 3.7: Recta de calibrado obtenida con los patrones de c-HDL

3.2.3. c-LDL

El kit utilizado para la determinación de c-LDL en suero fue el c-LDL directo, de *Linear Chemicals*. Se trata de un método enzimático colorimétrico que contiene tres reactivos:

- R1 o reactivo enzimático formado por tampón GOOD 100 mmol/l pH 7,0, CE 5 U/ml, CO 1 U/ml, catalasa 200 KU/L, HDAOS 1 mmol/l.
- R2 o reactivo POD/4-AA. Contiene POD 15 U/ml y 4-AA 4 mmol/l.
- Patrón o calibrador. Es el mismo que el que se utiliza para la determinación de la concentración de c-HDL. Presenta una concentración de c-LDL conocida de 97,8 mg/ml.

Este kit permite cuantificar la concentración de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) en dos etapas. En la primera el colesterol de las lipoproteínas distintas a las c-LDL presentes en la muestra se descomponen por la acción simultánea de la colesterol esterasa (CE) y la colesterol oxidasa (CO) a pH 7, dando como productos finales colesteno y peróxido de hidrógeno, convirtiéndose éste último en oxígeno y agua por acción de la catalasa. En una segunda etapa, un tensioactivo que actúa específicamente sobre la c-LDL se añade al producto del paso anterior, cuantificándose el colesterol residual mediante una reacción tipo Trinder en la que el derivado anílico, HDAOS ¹, y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción

¹N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina

Patrón	Concentración (mg/ml)	Volumen (μ l)
LP-1	30	30 (D/10)
LP-2	80	85 (D/10)
LP-3	175	18 (Patrón inicial)
LP-4	325	34 (Patrón inicial)
LP-5	450	48 (Patrón inicial)
LP-6	600	64 (Patrón inicial)

Tabla 3.5: Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de c-LDL

del H_2O_2 en presencia de peroxidasa (POD) para formar una quinonaimina roja proporcional a la concentración de c-LDL de la muestra.

El procedimiento empleado para la determinación de c-LDL en suero muy similar al realizado para la determinación de c-HDL. A partir del patrón inicial (concentración de 97,8 mg/ml) se preparó una dilución 10 (D/10) de 9,78 mg/ml. Se calcularon posteriormente los distintos volúmenes que sería necesario utilizar para preparar distintos patrones de distintas concentraciones a partir de las cuales construiremos la recta de calibrado. Los distintos patrones (LP-1...LP-6), así como su concentración (mg/dl) y los volúmenes (μ l) requeridos de patrón inicial o D/10 para obtenerlos, se muestran en el cuadro 3.5.

Una vez preparados los patrones, se procedió a la determinación de las concentraciones de c-LDL. Para ello se añadían 10 μ l de cada patrón en una cubeta de plástico de 1 cm de paso de luz. Posteriormente, se añadió en cada una de las cubetas 750 μ L de R1 manteniéndose después de mezclado 5 minutos en un baño termostaticado a 37°C. Transcurrido éste tiempo se procedió a la adición de 250 μ l de R2, homogeneizando y reservando de nuevo en el mismo baño a 37°C. De nuevo, 5 minutos más tarde se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Hitachi UV/VIS a una longitud de onda de 600 nm. Se realizaron 4 medidas de absorbancia para cada patrón ($A_1... A_4$), reflejados en el cuadro 3.6. A partir de los datos de absorbancia obtenidos se construyó la recta de calibrado 3.8.

La ecuación de la recta obtenida para c-LDL fue $a = 0,0029c - 0,0487$, siendo $c =$ concentración y $a =$ absorbancia.

Posteriormente se llevó a cabo la determinación de las concentraciones de c-LDL en las distintas muestras de suero pertenecientes a cada conejo. Se siguió el mismo procedimiento que para los patrones. Se determinaron tres valores de absorbancia, A_1 , A_2 y A_3 para cada conejo, correspondientes a las semanas 0, 1 y 2 respectivamente. Las concentración de c-LDL

Patrón	Concentración de c-LDL (mg/mL)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	\bar{X}	D.E.	C.V.
LP-1	30	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	0,00	0,05
LP-2	80	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18	0,01	0,03
LP-3	175	0,44	0,42	0,44	0,45	0,44	0,01	0,02
LP-4	325	0,89	0,92	0,78	0,87	0,87	0,05	0,06
LP-5	450	1,30	1,30	1,26	1,27	1,28	0,02	0,02
LP-6	600	1,74	1,73	1,72	1,75	1,74	0,01	0,01

Tabla 3.6: Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para c-LDL

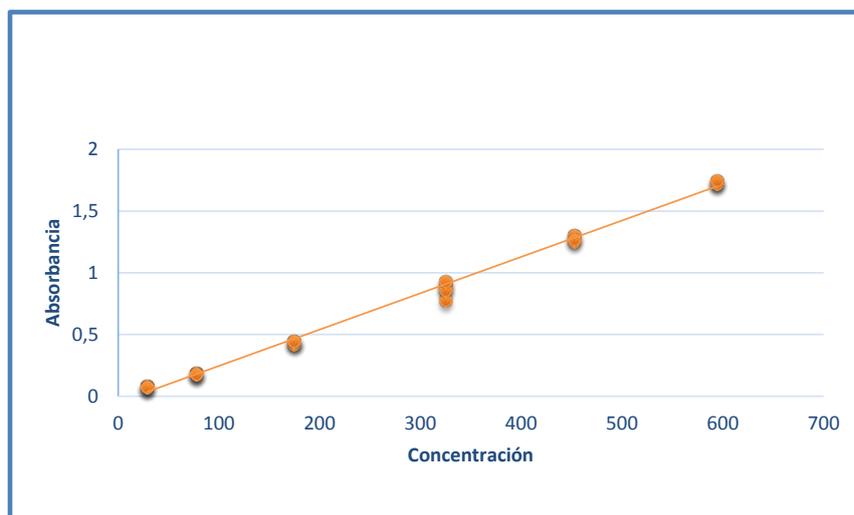


Figura 3.8: Recta de calibrado obtenida con los patrones de c-LDL

de cada muestra era calculado mediante la extrapolación del valor de absorbancia a la recta de calibrado. Este valor de concentración es expresado en mg/ml.

Las concentraciones de *c*-LDL también se calcularon mediante la fórmula utilizada por Eblen-Zajjur y Eblen-Zajjur (2001), la fórmula de Friedewald $c - LDL = CT - c - HDL - (TG/5)$, donde

c - *LDL* representa la concentración de *c*-LDL en suero, en mg/ml.

CT representa la concentración de *CT* en mg/ml.

c - *HDL* muestra la concentración de *c*-HDL en suero en mg/ml.

TG indica la concentración de *TG* en suero, en mg/ml.

3.2.4. TG

La determinación de la concentración de *TG* se realizó mediante la utilización del kit triglicéridos MR, de *Linear Chemicals*. Se trata de un método enzimático colorimétrico que contiene los reactivos:

- R1 o monoreactivo: formado por tampón PIPES (ácido 1,4 piperazina- N,N'- dietanosulfónico) 50 mmol/l pH 6,8, LPL (lipoproteína lipasa) ≥ 12 KU/l, GK ≥ 1 KU/l, GPO (glicerofosfato oxidasa) ≥ 10 KU/l, ATP (adenosin trifosfato) 2,0 mmol/l, Mg^{2+} 40 mmol/l, POD $\geq 2,5$ KU/l, 4-AA 0,5 mmol/l, fenol 3 mmol/l, tensioactivos no iónicos 2g/l (p/v) y biocidas.
- Patrón o calibrador: Contiene glicerol 2,26 mmol/l, equivalente a 200 mg/dl de glicerol trioleato.

El método utilizado por el kit para la determinación de *TG* en suero se divide en varias etapas. En primer lugar se produce una hidrólisis enzimática de los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos libres (FFA) por acción de la lipoprotein lipasa (LPL). Posteriormente el glicerol es fosforilado por el adenosín trifosfato (ATP) en presencia de glicerol-kinasa (GK) para formar glicerol-3-fosfato (G-3-P) y adenosín difosfato (ADP). Más tarde el G-3-P es oxidado por la glicerofosfato oxidasa (GPO), convirtiéndose en dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y peróxido de hidrógeno. Por último, la acción conjunta de la peroxidasa (POD), el fenol y la 4-aminoantipirina (4-AA), se forma un cromógeno rojo proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.

Patrón	Concentración (mg/ml)	Volumen (μ l)
TP-1	40	20 (D/10)
TP-2	75	40 (D/10)
TP-3	100	52 (D/10)
TP-4	150	80 (D/10)
TP-5	225	11 (Patrón inicial)
TP-6	300	15 (Patrón inicial)

Tabla 3.7: Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de TG

Patrón	Concentración de triglicéridos (mg/ml)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	\bar{X}	D.E.	C.V.
TP-1	40	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,00	0,08
TP-2	75	0,10	0,09	0,10	0,10	0,10	0,00	0,03
TP-3	100	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,00	0,02
TP-4	150	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21	0,01	0,05
TP-5	225	0,34	0,33	0,33	0,32	0,332	0,03	0,08
TP-6	300	0,52	0,47	0,46	0,47	0,48	0,03	0,05

Tabla 3.8: Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para TG

El procedimiento utilizado para la determinación de triglicéridos fue el mismo que el descrito para el cálculo de las concentraciones de colesterol total.

En primer lugar se llevó a cabo la preparación de los patrones de distintas concentraciones a partir del patrón inicial (200 mg/dl). Primero se preparó la D/10, de 20 mg/dl y luego se calcularon los volúmenes (μ l) de patrón inicial o de D/10 que sería necesario añadir para obtener las distintas concentraciones de patrón (cuadro 3.7).

Posteriormente se procedió a la determinación de triglicéridos. Para ello se añadían 10 μ l de patrón en cada cubeta de plástico de 1 cm de paso de luz. Luego se añadía cubetas 1 mL de monoreactivo manteniéndose después de mezclado 15 minutos a temperatura ambiente. Pasado éste tiempo se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Hitachi UV/VIS a una longitud de onda de 500 nm. Se realizaron 4 medidas de absorbancia para cada patrón (A₁... A₄), reflejados en la tabla 3.8. A partir de los valores obtenidos, se construyó la recta de calibrado (figura 3.9).

La ecuación de la recta de calibrado es de $a = 0,0017c - 0,0342$, siendo c =concentración y a =absorbancia.

Posteriormente se llevó a cabo la determinación de las concentraciones de TG en las distintas muestras de suero pertenecientes a cada conejo. Se siguió el mismo procedimiento que

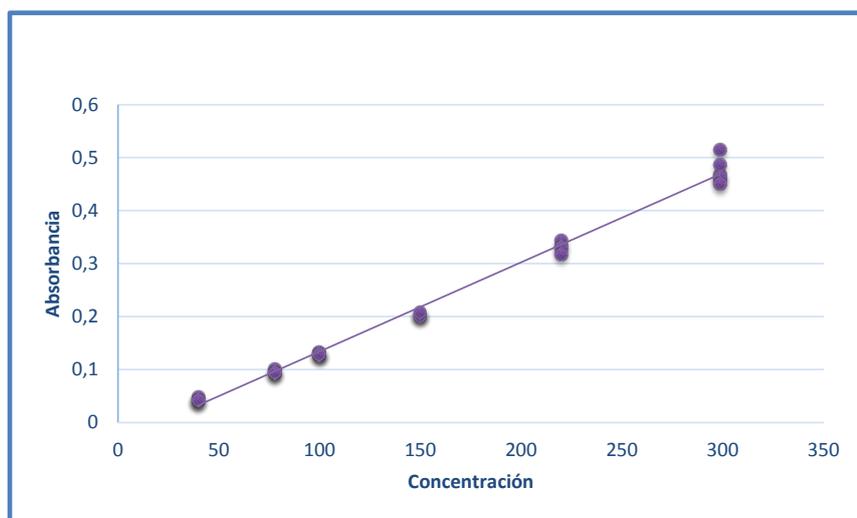


Figura 3.9: Recta de calibrado obtenida con los patrones de TG

para los patrones. Se determinaron tres valores de absorbancia, A_1 , A_2 y A_3 para cada conejo, correspondientes a las semanas 0, 1 y 2 respectivamente. Las concentración de triglicéridos de cada muestra era calculado mediante la extrapolación del valor de absorbancia a la recta de calibrado. Este valor de concentración es expresado en mg/ml.

3.2.5. Apo-B

Para la determinación de apo-B se utilizó el kit de apo-B de *Spinreact*. Se trata de un ensayo turbidimétrico en el que los anticuerpos anti-apo-B forman compuestos insolubles cuando se combinan con las apo-B de las distintas muestras, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de apo-B de las muestras, y que puede ser cuantificado por comparación con un calibrador de apo-B de concentración conocida. El kit está formado por tres reactivos:

- Diluyente (R1). Formado por Tris 100 mmol/l, PEG 4000, pH 7,2 y azida sódica 0,95 g/l.
- Anticuerpo (R2). Contiene IgG de cabra, anti-apo-B humana, tris mmol/l, pH 7,2 y azida sódica 0,95 g/l.
- Calibrador o patrón. Presenta una concentración de apo-B conocida: 100 mg/dl.

Patrón	Concentración (mg/ml)	Volumen (μ l)
AP-1	20	40 (D/10)
AP-2	30	60 (D/10)
AP-3	40	80 (D/10)
AP-4	60	125 (D/10)
AP-5	80	15 (Patrón inicial)

Tabla 3.9: Volúmenes de patrón inicial o D/10 necesarios para obtener distintos patrones de apo-B

Patrón	Concentración de apo-B (mg/ml)	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	\bar{X}	D.E	C.V
AP-1	20	0,09	0,03	0,08	0,03	0,06	0,03	0,54
AP-2	30	0,06	0,05	0,06	0,19	0,09	0,07	0,75
AP-3	40	0,22	0,21	0,23	0,22	0,22	0,01	0,03
AP-4	60	0,31	0,26	0,28	0,32	0,29	0,03	0,10
AP-5	80	0,40	0,43	0,45	0,42	0,43	0,02	0,05

Tabla 3.10: Resultados experimentales de la determinación de la absorbancia de los patrones para apo-B

A partir de este patrón inicial se preparó una dilución 10 (D/10), de 10 mg/ml. Se calcularon posteriormente los volúmenes de patrón inicial o de D/10 que sería necesario utilizar para obtener distintos patrones, que nos servirán posteriormente para construir la recta de calibrado. En el cuadro 3.9 se muestran los distintos patrones (AP-1...AP-5), así como su concentración (mg/dl) y los volúmenes (μ l) requeridos de patrón inicial o D/10 para obtenerlos.

Posteriormente se procedió a la determinación de la apo-B. Se añadieron 8 μ l de cada patrón en una cubeta de polipropileno de 1 cm de paso de luz. Posteriormente, se añadió en cada una de las cubetas 750 μ l de diluyente (R1) manteniéndose después de mezclado en un baño termostatzado a 37°C. Se añadieron inmediatamente después 250 μ l de anticuerpo (R2), homogeneizando y reservando de nuevo en el mismo baño a 37°C. Cinco minutos más tarde se procedió a la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Hitachi UV/VIS a una longitud de onda de 340 nm. Se realizaron 4 medidas de absorbancia para cada patrón (A₁... A₄). A partir de los datos de absorbancia obtenidos y las concentraciones conocidas de patrón (cuadro 3.10), se construyó la recta de calibrado (figura 3.10).

La ecuación de la recta de calibrado es $a = 0,0029c + 0,0142$, donde c = concentración de apo-B y a = absorbancia.

A continuación se procedió a la medición de la concentración de apo-B de las distintas muestras. Se midió la absorbancia correspondiente a las distintas muestras siguiendo el mismo

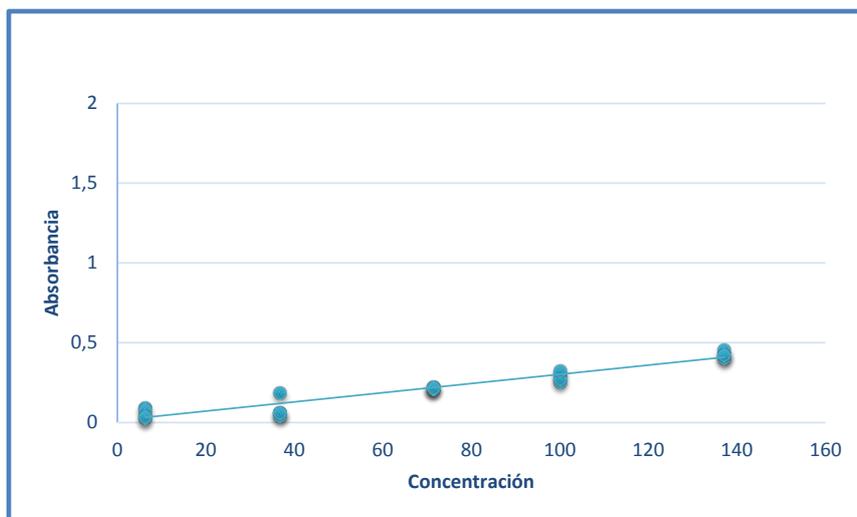


Figura 3.10: Recta de calibrado obtenida con los patrones de apo-B

procedimiento que para los patrones. Se realizaron 3 mediciones de absorbancia por cada conejo, A_0 , A_1 y A_2 , correspondientes a la semana 0, 1 y 2, respectivamente. Estos valores de absorbancia extrapolados a la ecuación de la recta de calibración, nos permitió calcular las distintas concentraciones de apo-B correspondientes a cada una de las muestras, expresadas en mg/ml.

3.2.6. c-VLDL

A partir de las concentraciones obtenidas de triglicéridos para las diferentes muestras, se procedió al cálculo de las concentraciones de c-VLDL, utilizando para ello la fórmula $c-VLDL = TG/5$ (Satheesh y Pari, 2008), siendo $c-VLDL$ la concentración de c-VLDL (mg/ml) y TG la concentración de TG (mg/ml).

3.2.7. IA

El conocimiento de las concentraciones de c-VLDL, c-LDL y c-HDL facilitó el cálculo del índice aterogénico, a partir de la siguiente ecuación (Hassan y Abdel-Wahhab, 2012):

$$AI = \frac{c-VLDL + c-LDL}{c-HDL}$$

donde,

AI representa el índice aterogénico.

$c - VLDL$ representa la concentración de c-VLDL, en mg/ml.

$c - LDL$ representa la concentración de c-LDL, en mg/ml.

$c - HDL$ representa la concentración de c-HDL, en mg/ml.

3.3. Equipos, material y reactivos empleados

Los reactivos que se emplearán para la realización del estudio se describen a continuación:

- Kit de diagnóstico *Linear Chemicals* para la determinación de la concentración de CT en suero.
- Kit de diagnóstico *Linear Chemicals* para la determinación de la concentración de c-HDL en suero.
- Kit de diagnóstico *Linear Chemicals*, para la determinación de la concentración de c-LDL en suero.
- Kit de diagnóstico *Linear Chemicals* para la determinación de la concentración de TG en suero.
- Kit de diagnóstico *Spinreact*, para la determinación de apo-B en suero.
- Agua tipo 1. Ultramatic Wasserlab, grado ultrapura.

Los equipos disponibles en nuestro laboratorio que se utilizarán para continuar con el proceso experimental son los siguientes:

- Centrífuga modelo Kokusan H-103 N, utilizada para la centrifugación de las muestras de sangre inmediatamente después de ser extraídas del animal.
- Congelador de - 80°C modelo Skadi Green Line. Permite la congelación, tanto de las muestras de suero como de plasma, para evitar su deterioro.
- Espectrofotómetro UV/VIS Hitachi U-200. Se utiliza con el objetivo de medir la absorbancia correspondiente a cada una de las muestras de los animales, para la determinación de los distintos parámetros bioquímicos.

- Hoja de cálculo Microsoft Excel 2013, para el procesamiento de los datos.
- Programa informático SPSS, para el análisis estadístico de los resultados obtenidos.

El material que se utilizará como apoyo en el cumplimiento de los distintos procedimientos experimentales está reflejado en el siguiente listado:

- Palomillas para la extracción de sangre Vasocan® Braunule®, de Braun. Grosor 22G/1'' (0,9x25 mm) 36 ml/min, ref. 4248090.
- Tubos Vacutainer®, donde se recoge la sangre que se extrae del animal. Unos contienen citrato (BD Vacutainer® 9NC 0,109M, Ref.363047, 1,8mm, 13x75mm) y otros EDTA (BD Vacutainer® SST II Advance Ref. 366468, 8,5 ml, 16x100 mm).
- Xilol o xileno (Panreac). Se trata de dimetilbenceno, utilizado para dilatar y hacer más visible la vena de la que se va a extraer sangre.
- Cepo. Lugar donde colocamos al animal al que se le va a extraer sangre.
- Eppendorf de 0,5 ml y 1,5 ml, donde se almacenan las muestras, divididas en alícuotas.
- Cubetas desechables de sección cuadrada de plástico de 1 cm de paso de luz, para la medición de la absorbancia en el espectrofotómetro.
- Vasos de precipitados de 100 ml y 200 ml, utilizado como medio de almacenamiento de agua u otros reactivos, para su posterior utilización.
- Matraces aforados 1 ml, utilizados para la elaboración de diluciones de los patrones empleados en la determinación de los distintos parámetros bioquímicos.
- Baño termostático modelo Selecta, utilizado a 37^o, temperatura óptima para la síntesis de los compuestos coloreados (a partir de la mezcla de reactivos y muestras), que se utilizarán para la medición de la absorbancia y posterior determinación de la concentración de los distintos parámetros bioquímicos en suero.
- Pipetas de volumen variable (0,5–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl) para reactivos y muestras. Modelo eppendorf®.
- Pipetas Pasteur de vidrio.

- Tubos de polipropileno de 25 ml con tapón.

3.4. Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico de los conjuntos de datos relativos a los pesos de los conejos, se utilizan los obtenidos al inicio, a la mitad y al final del estudio, llevándose a cabo, en primer lugar, el análisis de la normalidad y de la uniformidad de la varianza. La normalidad de los conjuntos de datos obtenidos para los pesos de los conejos durante el estudio se determina mediante el test de asimetría. La prueba de Levene de homogeneidad de varianzas sirve para determinar la uniformidad de la varianza correspondiente a estos datos. El cumplimiento de las condiciones de normalidad y de uniformidad de la varianza en estos valores permite la utilización posterior de los tests paramétricos: Anova de 1 vía para ver la existencia de diferencias significativas entre los pesos de los distintos grupos de tratamientos, y el test de Duncan para ver entre qué pares de datos se producen esas diferencias. Si no se cumple alguna de éstas condiciones, se emplean entonces test no paramétricos: test de Kruskal–Wallis para ver diferencias entre los grupos de tratamiento y test de Wilcoxon para diferencias entre las semanas de tratamiento.

Para el resto de los parámetros estudiados (CT, c-HDL, c-LDL, c-VLDL, TG, apo-B e IA) se aplicará el test de asimetría para la comprobación de la normalidad de los datos y la prueba de Levene para la determinación de la uniformidad de la varianza. La existencia de normalidad y de uniformidad de la varianza permite la utilización de tests paramétricos: Anova de 1 o 2 vías y test de Duncan. En caso contrario se aplican tests no paramétricos, como el test de Kruskal–Wallis, que se utiliza para conocer la existencia de diferencias significativas en los valores obtenidos para los distintos grupos de tratamientos. Si estas diferencias son significativas la aplicación del test U de Mann–Whitney permite determinar entre qué pares de grupos de tratamiento se producen dichas diferencias. De la misma forma, el test de Friedman se emplea para analizar la existencia de diferencias significativas entre las semanas de tratamiento. El test de Wilcoxon nos sirve posteriormente para ver entre qué pares de grupos de datos se producen dichas diferencias.

En todos los casos se utiliza como nivel de significación para decidir si las diferencias son o no significativas el de $p < 0,05$.

Resultados y discusión

En este capítulo se muestran todos los resultados que se obtuvieron en el estudio que nos ocupa. Durante el mencionado estudio fallecieron dos animales: uno del grupo control y otro del grupo *Sideritis*. Estos acontecimientos ocurrieron siempre a las 5 semanas del período experimental.

4.1. Peso de los animales

Durante todo el estudio se realizó un control de peso semanal a todos los animales, desde la semana 1 a la 9, procediendo en la semana 10 al sacrificio de los animales. En los cuadros 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4 se reflejan los datos obtenidos de estos controles de peso durante las semanas 1 a la 9 para el grupo control, colesterol, *Sideritis* y simvastatina, respectivamente. Los valores de los pesos desde la semana 1 a la semana 9 se denotan por P_1 a P_9 , expresándose estos valores en kg.

Los resultados obtenidos de los pesos iniciales (P_i) y finales (P_f) de los animales objeto del proceso experimental, además de los incrementos de peso producidos en cada animal (ΔP), así como la media de estos incrementos de peso en cada grupo experimental (\bar{X}) y sus desviaciones estándar (DE) se hallan reflejados a modo de resumen en los cuadros 4.5, 4.6, 4.7 y 4.8.

Se observa que el grupo experimental que alcanzó un mayor incremento de peso fue el grupo colesterol ($1,57 \pm 0,20$ kg) . El incremento de peso obtenido en los grupos tratados con *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* y simvastatina fue inferior ($1,43 \pm 0,24$ kg y $1,41 \pm 0,09$ kg, respectivamente). Los valores medios de los porcentajes de incremento de

Conejo (n ^o)	P ₁ (kg)	P ₂ (kg)	P ₃ (kg)	P ₄ (kg)	P ₅ (kg)	P ₆ (kg)	P ₇ (kg)	P ₈ (kg)	P ₉ (kg)
1	2,35	2,97	3,09	3,30	3,41	3,44	3,49	3,72	3,66
2	2,33	2,90	3,13	3,23	3,32	3,43	3,32	3,65	3,66
3	1,92	2,62	2,78	2,92	2,89	3,10	3,20	3,31	3,35
4	2,18	2,87	2,99	3,11	3,13	3,31	3,31	3,63	3,63
5	2,38	3,05	3,14	3,22	3,31	3,43	3,46	3,58	3,57
6	1,97	2,26	2,52	2,69	2,94	2,83	2,98	3,18	3,18
7	2,05	2,34	2,51	2,75	2,94	3,00	3,14	3,26	3,52
8	2,16	2,50	2,77	2,96	3,14	3,13	–	–	–
9	2,14	2,52	2,69	2,89	3,01	3,12	3,31	3,48	3,62
10	2,34	2,46	2,71	2,93	3,09	3,12	3,15	3,32	3,49
$\bar{X} \pm DE$	2,18 ± 0,16	2,65 ± 0,28	2,83 ± 0,24	2,99 ± 0,21	3,12 ± 0,18	3,19 ± 0,21	3,26 ± 0,16	3,46 ± 0,20	3,52 ± 0,16

Tabla 4.1: Pesos de los conejos del grupo control obtenidos durante todo el estudio

Conejo (n ^o)	P ₁ (kg)	P ₂ (kg)	P ₃ (kg)	P ₄ (kg)	P ₅ (kg)	P ₆ (kg)	P ₇ (kg)	P ₈ (kg)	P ₉ (kg)
11	2,34	3,05	3,24	3,37	3,39	3,46	3,66	3,73	3,77
12	2,35	2,88	3,00	3,14	3,27	3,29	3,33	3,53	3,62
13	1,86	2,62	2,71	2,95	3,10	3,09	3,19	3,40	3,47
14	1,95	2,23	2,52	2,71	2,92	2,90	3,09	3,33	3,53
15	1,75	2,20	2,48	2,71	2,77	2,78	3,22	3,30	3,49
16	2,01	2,37	2,52	2,76	2,87	2,92	3,24	3,32	3,53
17	2,20	2,39	2,62	2,79	2,99	2,98	3,52	3,67	3,88
18	2,19	2,58	2,87	3,05	3,24	3,45	3,17	3,28	3,55
19	2,04	2,41	2,57	2,73	2,93	2,95	3,33	3,47	3,77
20	2,22	2,39	2,58	2,81	3,04	3,00	3,22	3,29	3,55
21	1,56	2,02	2,39	2,66	2,85	2,99	3,32	3,42	3,51
22	2,12	2,26	2,57	2,76	2,94	3,01	3,45	3,51	3,75
$\bar{X} \pm DE$	2,05 ± 0,24	2,45 ± 0,29	2,67 ± 0,25	2,87 ± 0,22	3,03 ± 0,19	3,07 ± 0,22	3,31 ± 0,16	3,44 ± 0,15	3,62 ± 0,14

Tabla 4.2: Pesos de los conejos del grupo colesterol obtenidos durante todo el período experimental

Conejo (n ^o)	P ₁ (kg)	P ₂ (kg)	P ₃ (kg)	P ₄ (kg)	P ₅ (kg)	P ₆ (kg)	P ₇ (kg)	P ₈ (kg)	P ₉ (kg)
23	2,33	2,84	2,90	3,20	3,25	3,29	3,33	3,34	3,37
24	2,43	2,58	2,62	2,73	2,84	2,98	2,99	3,25	3,58
25	2,36	3,03	3,13	3,26	3,40	3,49	3,52	3,73	3,74
26	1,90	2,55	2,71	2,93	2,98	3,18	3,22	3,43	3,47
27	1,89	2,64	2,84	2,99	2,97	3,18	3,34	3,47	3,54
28	1,99	2,37	2,59	2,75	2,99	2,98	3,19	3,37	3,69
29	2,06	2,41	2,61	2,84	2,95	2,91	3,12	3,19	3,47
30	2,09	2,30	2,50	2,74	2,85	2,84	3,23	3,36	3,66
31	2,04	2,31	2,51	2,73	2,94	2,94	3,02	3,14	3,44
32	2,25	2,51	2,64	2,80	2,96	2,94	3,17	3,28	3,37
33	2,04	2,19	2,47	2,66	2,79	2,87	–	–	–
34	2,04	2,19	2,44	2,76	2,83	2,89	3,40	3,55	3,75
$\bar{X} \pm DE$	2,12 ± 0,18	2,49 ± 0,26	2,66 ± 0,20	2,87 ± 0,19	2,98 ± 0,18	3,04 ± 0,20	3,23 ± 0,16	3,37 ± 0,17	3,55 ± 0,14

Tabla 4.3: Pesos de los conejos del grupo *Sideritis* obtenidos durante todo el período experimental

Conejo (n ^o)	P ₁ (kg)	P ₂ (kg)	P ₃ (kg)	P ₄ (kg)	P ₅ (kg)	P ₆ (kg)	P ₇ (kg)	P ₈ (kg)	P ₉ (kg)
35	2,29	2,96	3,05	3,14	3,30	3,35	3,43	3,51	3,52
36	2,44	3,13	3,30	3,26	3,43	3,53	3,61	3,78	3,82
37	2,35	2,98	3,02	3,14	3,29	3,39	3,51	3,62	3,60
38	1,84	2,63	2,81	2,94	3,03	3,22	3,22	3,37	3,39
39	1,96	2,68	2,81	2,96	3,00	3,13	3,21	3,30	3,34
40	1,93	2,24	2,44	2,56	2,90	2,71	2,99	3,26	3,33
41	2,17	2,42	2,69	2,91	3,10	3,17	2,86	3,39	3,64
42	1,99	2,35	2,53	2,68	2,95	2,95	3,25	3,37	3,46
43	2,16	2,37	2,62	2,82	2,90	2,96	3,27	3,36	3,62
44	2,09	2,28	2,54	2,80	2,94	3,03	3,21	3,29	3,50
45	2,17	2,32	2,64	2,81	3,04	2,97	3,28	3,43	3,64
46	2,22	2,36	2,62	2,84	3,03	3,07	3,36	3,470	3,65
$\bar{X} \pm DE$	2,13 ± 0,18	2,56 ± 0,31	2,76 ± 0,25	2,91 ± 0,20	3,08 ± 0,17	3,12 ± 0,23	3,27 ± 0,20	3,43 ± 0,15	3,54 ± 0,15

Tabla 4.4: Pesos de los conejos del grupo *simvastatina* obtenidos durante todo el período experimental

Conejo (n ^o)	P_i (kg)	P_f (kg)	ΔP (kg)	$\% \Delta P$ (%)
1	2,35	3,66	1,31	55,74
2	2,33	3,66	1,33	57,08
3	1,92	3,35	1,43	74,48
4	2,18	3,63	1,45	66,51
5	2,38	3,57	1,19	50,00
6	1,97	3,18	1,21	61,42
7	2,05	3,52	1,47	71,71
8	2,16	–	–	–
9	2,14	3,62	1,48	69,16
10	2,34	3,49	1,15	49,15
$\bar{X} \pm D.E.$	$2,18 \pm 0,16$	$3,52 \pm 0,16$	$1,34 \pm 0,13$	$61,69 \pm 9,31$

Tabla 4.5: Pesos de los conejos del grupo control obtenidos al comienzo y al final del período experimental

Conejo (n ^o)	P_i (kg)	P_f (kg)	ΔP (kg)	$\% \Delta P$ (%)
11	2,34	3,77	1,42	60,78
12	2,35	3,62	1,27	53,96
13	1,86	3,47	1,61	86,32
14	1,95	3,53	1,59	81,49
15	1,75	3,49	1,74	99,60
16	2,01	3,53	1,52	75,92
17	2,20	3,88	1,69	76,45
18	2,19	3,55	1,37	62,44
19	2,04	3,77	1,72	84,47
20	2,22	3,55	1,33	59,77
21	1,56	3,51	1,95	124,87
22	2,12	3,75	1,63	76,91
$\bar{X} \pm D.E.$	$2,05 \pm 0,24$	$3,62 \pm 0,14$	$1,57 \pm 0,20$	$78,58 \pm 19,63$

Tabla 4.6: Pesos de los conejos del grupo colesterol obtenidos al comienzo y al final del período experimental

Conejo (n ^o)	P_i (kg)	P_f (kg)	ΔP (kg)	$\% \Delta P$ (%)
23	2,33	3,37	1,04	44,64
24	2,43	3,58	1,15	47,33
25	2,36	3,74	1,38	58,47
26	1,90	3,47	1,57	82,63
27	1,89	3,54	1,65	87,30
28	1,99	3,65	1,70	85,43
29	2,06	3,69	1,41	68,45
30	2,09	3,47	1,57	75,12
31	2,04	3,66	1,40	68,63
32	2,25	3,44	1,12	49,78
33	2,04	–	–	–
34	2,04	3,64	1,71	83,82
$\bar{X} \pm D.E.$	$2,12 \pm 0,18$	$3,23 \pm 0,32$	$1,43 \pm 0,24$	$68,33 \pm 16,08$

Tabla 4.7: Pesos obtenidos de los conejos del grupo *Sideritis* al comienzo y al final del período experimental

Conejo (n ^o)	P_i (kg)	P_f (kg)	ΔP (kg)	$\% \Delta P$ (%)
35	2,29	3,52	1,23	53,54
36	2,44	3,82	1,38	56,68
37	2,35	3,60	1,25	52,97
38	1,84	3,39	1,55	84,59
39	1,96	3,34	1,39	70,82
40	1,93	3,33	1,40	72,48
41	2,17	3,64	1,47	67,93
42	1,99	3,46	1,47	74,16
43	2,16	3,62	1,46	67,69
44	2,09	3,50	1,41	67,22
45	2,17	3,64	1,47	67,74
46	2,22	3,65	1,42	63,97
$\bar{X} \pm D.E.$	$2,13 \pm 0,18$	$3,54 \pm 0,15$	$1,41 \pm 0,09$	$66,65 \pm 9,04$

Tabla 4.8: Pesos obtenidos de los conejos del grupo *Simvastatina* al comienzo y al final del período experimental

peso de los distintos grupos experimentales fueron $61,69 \pm 9,31$; $78,58 \pm 19,63$; $68,33 \pm 16,08$ y $66,65 \pm 9,04\%$, en los grupos control, colesterol, Sideritis y simvastatina, respectivamente. Los conejos que incrementaron en menor medida su peso fueron los pertenecientes al grupo control, aunque no había diferencias significativas en el peso entre los 4 grupos.

Se realizó el test de asimetría, que dio como resultado que había normalidad y el test de Levene indicó que las diferencias entre los datos no eran significativas y por tanto había uniformidad de la varianza. El cumplimiento de estas dos condiciones nos permitió la realización de Anova de 1 vía, que indicó que no había diferencias significativas entre los pesos inicial, intermedio y final de los distintos grupos de tratamiento ($p < 0,05$).

4.2. Análisis de CT en suero

A partir de la recta de calibrado obtenida para el CT, cuyos datos se encuentran recogidos en el cuadro 3.2 de esta memoria (Material y métodos), se procedió al cálculo de las concentraciones de CT de cada una de las muestras de suero de los animales. Los resultados experimentales obtenidos de concentración de CT en suero en los distintos grupos de conejos son los que se muestran en los cuadros 4.9 , 4.10 , 4.11 y 4.12. Las variables C_0 , C_1 y C_2 hacen referencia a las concentraciones calculadas para las distintas muestras a partir de las ecuaciones de las rectas, en las semanas 0, 5 y 10, respectivamente, del proceso experimental. El valor de ΔC indica el incremento o disminución de la concentración final con respecto a la inicial, representándose ésta con signo negativo. Asimismo $\% \Delta C$ representa el porcentaje de incremento o disminución de estas concentraciones en la semana 10 con respecto a las concentraciones iniciales.

Las representaciones gráficas obtenidas de los datos anteriores se hayan reflejadas en las figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4. Las gráficas pertenecientes al mismo grupo experimental se dividieron en dos diferentes para permitir una mejor visualización de las mismas.

4.2.1. Grupo control

Todos los conejos de este grupo disminuyen al final del período experimental los niveles de CT, si los comparamos con los obtenidos en los inicios, a excepción del conejo 6, que aumenta este parámetro ($85,94$; $41,24$ y $94,77$ mg/ml, en las semanas 0, 5 y 10 del período

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
1	117,71	71,82	72,41	-45,29	-38,48
2	63,59	68,29	51,24	-12,35	-19,43
3	91,24	59,47	50,65	-40,59	-44,49
4	66,53	50,65	30,65	-35,88	-53,93
5	107,12	85,94	58,88	-48,24	-45,03
6	85,94	41,24	94,77	8,82	10,27
7	80,65	85,35	73,00	-7,65	-9,48
8	77,71	100,65	—	—	—
9	58,29	48,29	53,59	-4,71	-8,07
10	58,88	39,47	38,29	-20,59	-34,97
\bar{C}	79,76	65,65	58,69	-22,94	-27,07
DE	21,67	20,44	19,42	20,35	21,40

Tabla 4.9: Valores de concentración de CT en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
11	92,41	938,88	864,18	771,76	835,13
12	58,29	121,82	94,18	35,88	61,55
13	96,53	516,53	650,06	553,53	573,43
14	59,47	508,29	567,71	508,24	854,59
15	114,18	403,59	356,53	242,35	212,26
16	74,77	334,18	421,24	346,47	463,41
17	121,82	471,82	786,53	664,71	545,63
18	78,29	524,18	658,88	580,59	741,55
19	63,59	291,24	258,88	195,29	307,12
20	106,53	308,88	535,94	429,41	403,09
21	295,35	790,65	1133,00	837,65	283,61
22	58,29	257,12	454,18	395,88	679,11
\bar{C}	101,63 \pm	455,60 \pm	565,11 \pm	463,48 \pm	496,71 \pm
DE	65,00	228,45	281,21	237,88	253,27

Tabla 4.10: Valores de concentración de CT en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
23	50,55	141,24	290,65	240,10	475,00
24	97,12	246,53	136,53	39,41	40,58
25	67,12	275,94	315,35	248,24	369,85
26	92,41	661,82	848,88	756,47	818,58
27	105,94	388,29	421,24	315,29	297,61
28	57,71	580,65	761,82	704,12	1220,18
29	95,94	177,71	108,88	12,94	13,49
30	73,00	445,94	389,47	316,47	433,52
31	81,82	408,88	701,82	620,00	757,72
32	70,64	161,24	172,41	101,77	144,07
33	145,94	485,94	–	–	–
34	207,12	573,59	716,53	509,41	245,95
\bar{C}	95,44	378,98	442,14	351,29	437,87
DE	43,37	177,88	257,58	261,79	366,89

Tabla 4.11: Valores de concentración de CT en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
35	44,76	247,12	195,94	151,18	337,76
36	87,12	511,24	795,35	708,24	812,96
37	138,88	561,82	730,65	591,77	426,09
38	58,88	166,53	130,65	71,77	121,88
39	87,12	255,94	37,12	-50,00	-57,39
40	98,88	613,59	562,41	463,53	468,77
41	90,06	315,35	424,77	334,71	371,65
42	95,35	341,24	633,59	538,24	564,47
43	99,47	175,35	260,65	161,18	162,03
44	90,06	201,82	172,41	82,35	91,44
45	92,41	254,18	323,59	231,18	250,16
46	84,77	615,35	755,94	671,18	791,81
\bar{C}	88,98	354,96	418,59	329,61	361,80
DE	22,64	172,28	268,44	257,94	270,44

Tabla 4.12: Valores de concentración de CT en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

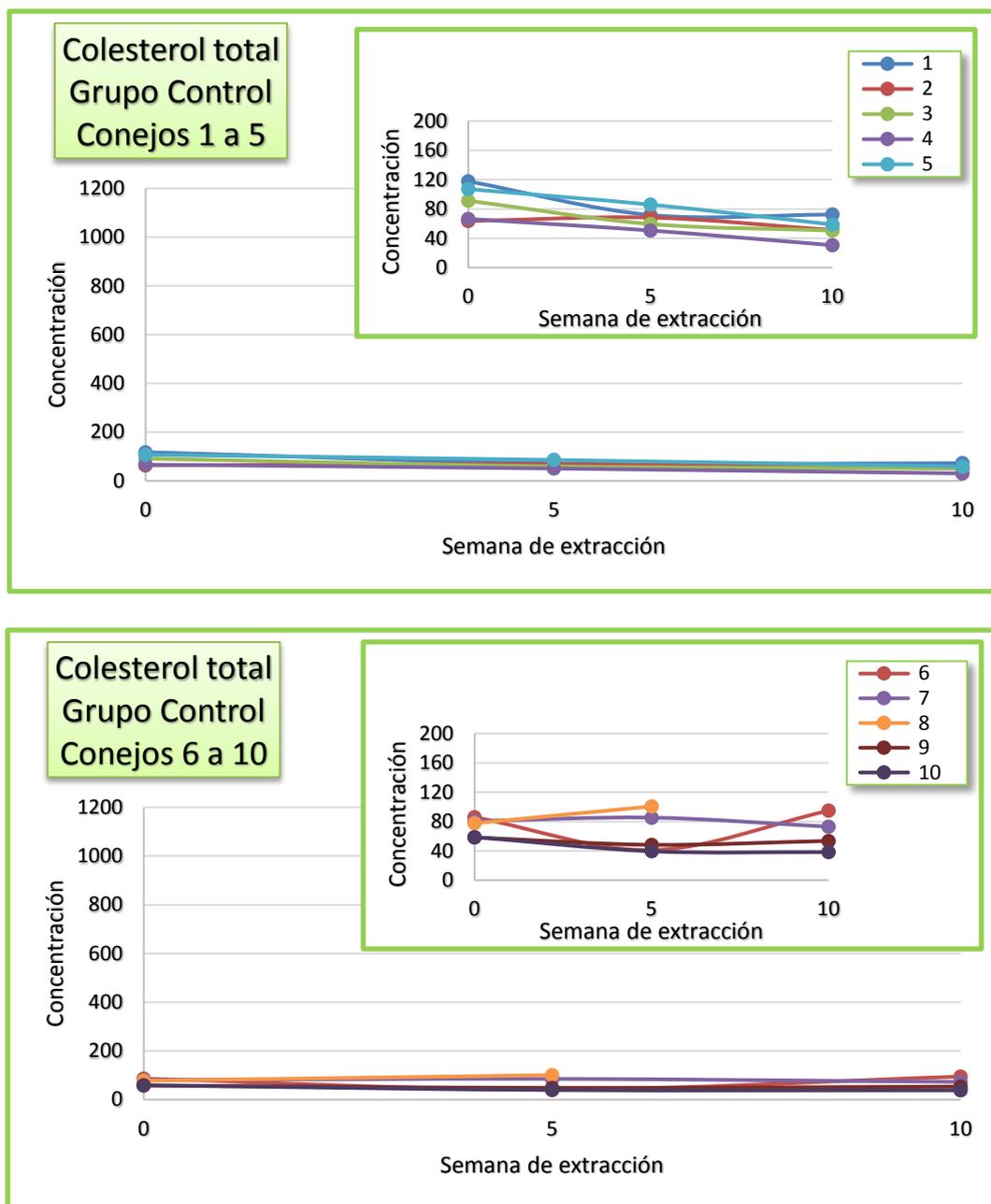


Figura 4.1: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo control. Se incluye detalle de las gráficas.

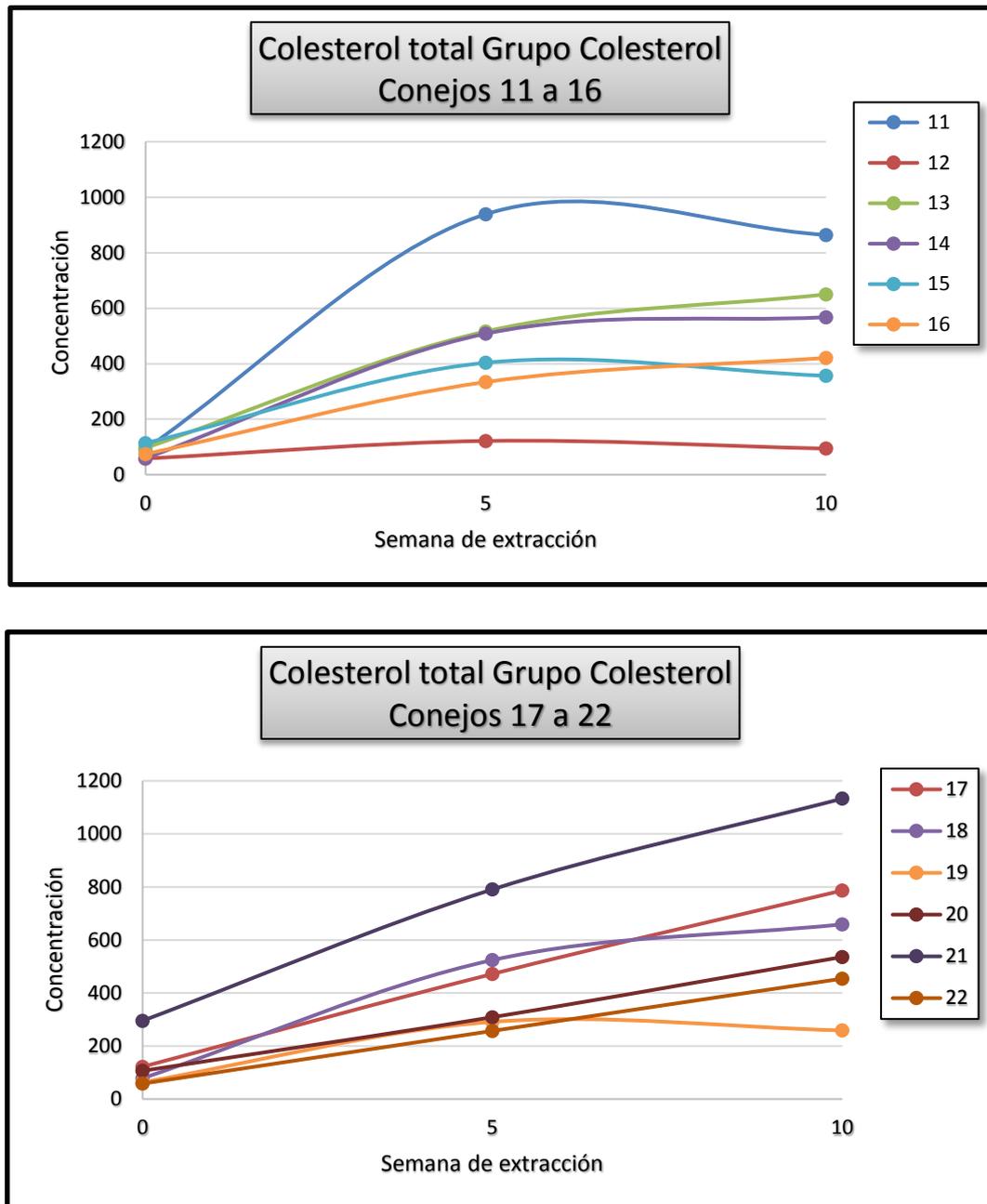


Figura 4.2: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo colesterol.

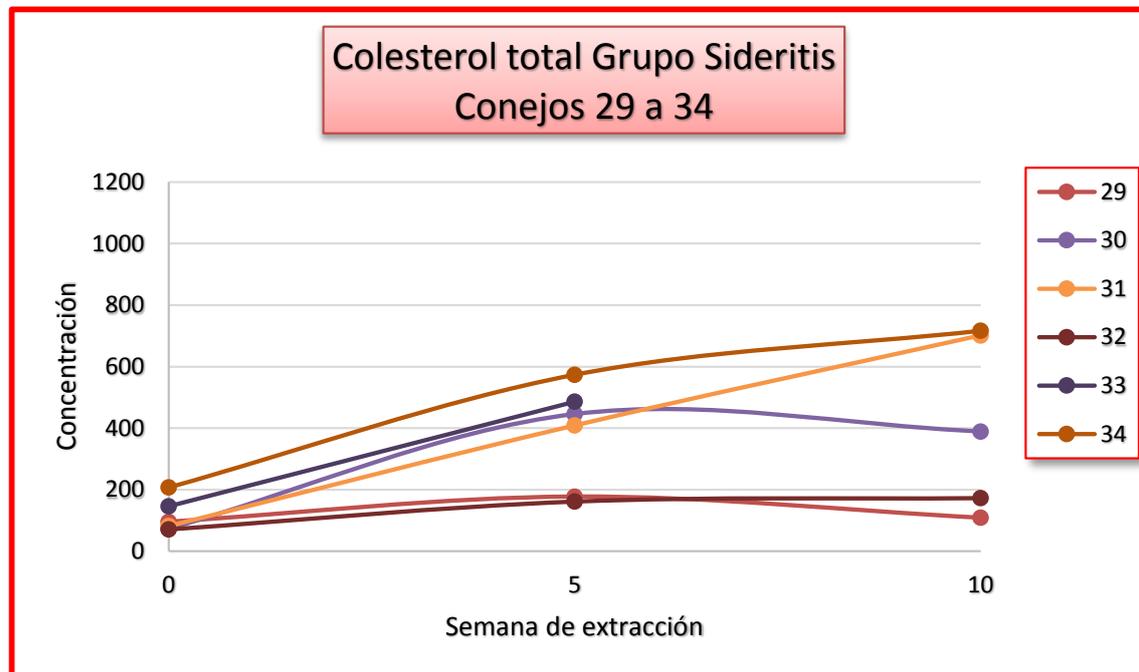
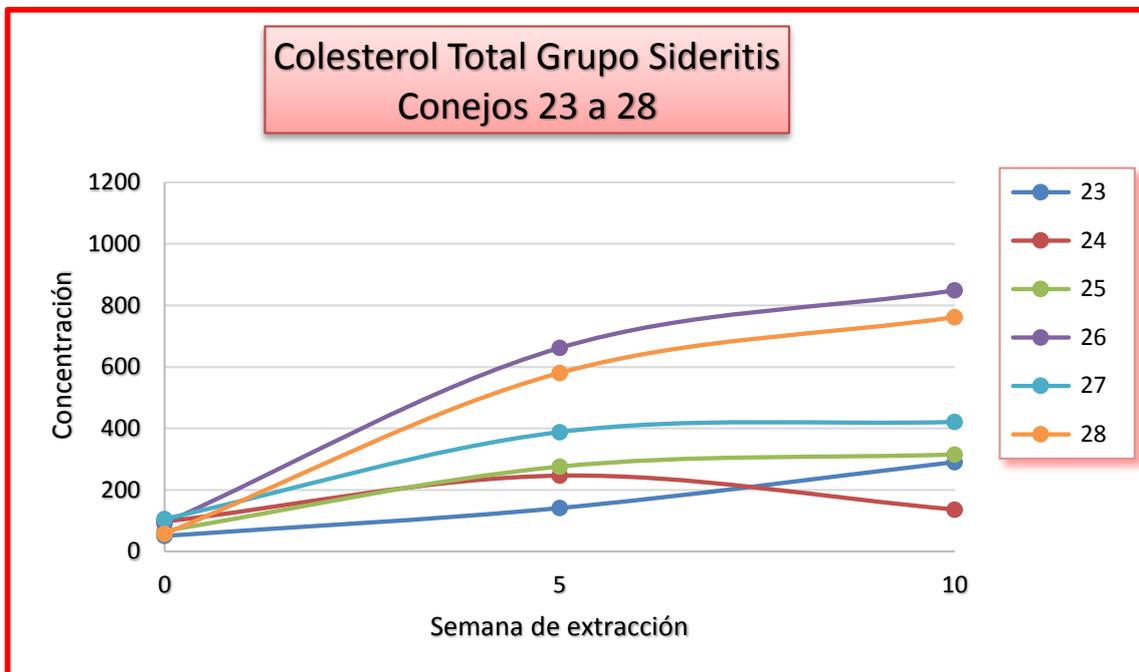


Figura 4.3: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.

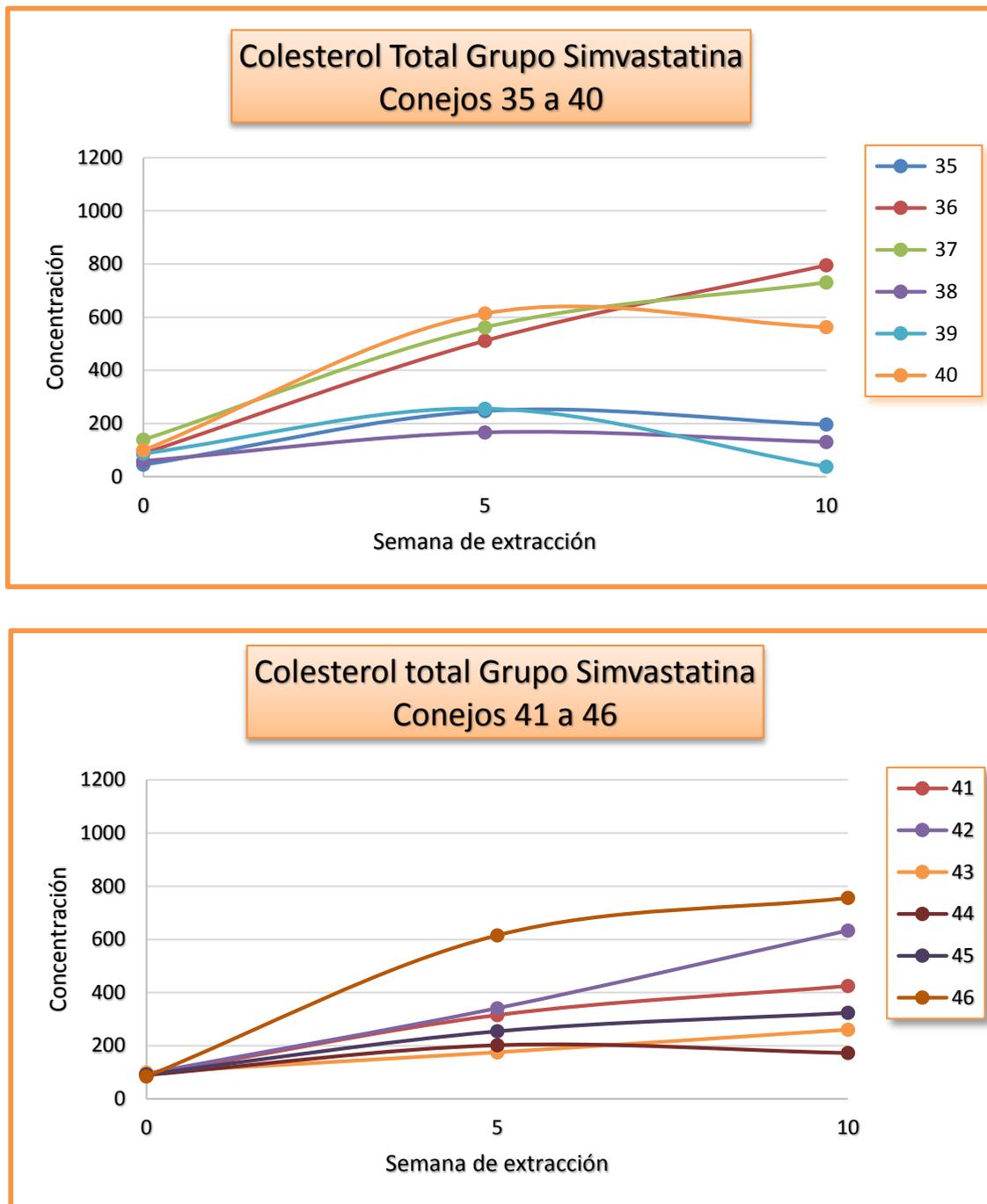


Figura 4.4: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de CT frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.

experimental, respectivamente). La mayor parte de los animales disminuyen los niveles de CT de forma paulatina, salvo en el caso de los conejos 2 y 7, que presentan un pico en la semana 5, para luego volver a disminuir los niveles por debajo de los iniciales. Los valores obtenidos en estos conejos fueron 63,59; 68,29 y 51,24 mg/ml (conejo 2) y 80,65; 85,35 y 73,00 mg/ml (conejo 7), en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental, respectivamente. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 117,71 y 30,65 mg/ml, respectivamente. El porcentaje medio de disminución de la concentración de CT fue de $27,07 \pm 21,40\%$.

4.2.2. Grupo colesterol

Se observa en todos los conejos una clara elevación de los niveles de CT a medida que pasa el tiempo. Todos los conejos presentan un incremento del valor de CT desde la semana 0 hasta la semana 5. A partir de ésta semana, hasta la semana 10 el valor de CT sigue incrementándose salvo en el caso de los conejos 11, 12, 15 y 19, donde disminuye ligeramente el valor, aunque alcanzando siempre al final valores superiores a los iniciales. Los valores máximo y mínimo alcanzados en los conejos de este grupo experimental fueron 1130,00 y 58,29 mg/ml, respectivamente. En las gráficas reflejadas en la figura 4.2 se muestran estos valores más dispares. El 100,00 % de los conejos de este grupo incrementó los niveles de colesterol, en un $496,71 \pm 253,27\%$ a lo largo de las semanas de tratamiento.

4.2.3. Grupo Sideritis

Se produce una disminución de los niveles de CT en los conejos 24, 29 y 30 y un ligero incremento de estos valores en el conejo 32 al final del proceso experimental, entre la semana 5 y la semana 10. Los valores obtenidos en estos conejos fueron 97,12; 246,53 y 136,53 mg/ml, 95,94; 177,71 y 108,88 mg/ml, 73,00; 445,94 y 389,47 mg/ml, en los tres primeros, y 70,64; 161,24 y 172,41 mg/ml en el cuarto. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 848,88 y 50,55 mg/ml, respectivamente. La tendencia general es de incremento de las concentraciones de colesterol, en un $437,87 \pm 366,89\%$.

4.2.4. Grupo simvastatina

Se aprecia un incremento de los niveles de CT en todos los conejos desde los inicios del tratamiento hasta la semana 5 del tratamiento. A partir de entonces, el 41,66 % disminuye los

niveles de CT. Se trata de los conejos 35 (44,76; 247,12 y 195,94 mg/ml), 38 (58,88; 166,53 y 130,65 mg/ml), 39 (87,12; 255,94 y 37,12 mg/ml), 40 (98,88; 613,59 y 562,41 mg/ml) y 44 (90,06; 201,82 y 172,41 mg/ml). Los valores máximo y mínimo obtenidos en este grupo fueron 795,35 y 37,12 mg/ml, respectivamente. La tendencia general es de un incremento de los niveles de CT, en un $361,80 \pm 270,44\%$. El grupo control fue el que mejores resultados obtuvo, de un 100,00 % de disminución, mientras que el grupo al que se le administró una dieta estándar suplementada con un 2,00 % de colesterol incrementó los niveles en un 100,00 %. Los grupos Sideritis y simvastatina disminuyeron en un 25 y un 41,66 % de los individuos, respectivamente, los niveles de CT, respectivamente, si los comparamos con el grupo colesterol. La tendencia en estos dos últimos grupos fue de incremento de las concentraciones de CT, en un $437,87 \pm 366,89\%$ y un $361,80 \pm 270,44\%$, pero no tan acusada como en el grupo colesterol. En estos grupos se apreciaron signos de disminución de los niveles de colesterol a consecuencia de la administración del tratamientos a partir de la semana 5.

4.2.5. Análisis estadístico

Los niveles de CT experimentaron cambios a lo largo de las semanas de tratamiento para todos los grupos experimentales. El test de Friedman mostró diferencias significativas entre las semanas 0, 5 y 10 para este parámetro ($p < 0,05$) y el test de Wilcoxon determinó que las diferencias estaban entre todos los pares de datos estudiados ($p < 0,05$). Por otra parte, la aplicación del test de Kruskal—Wallis mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los distintos grupos de tratamiento para los niveles de CT en suero ($p < 0,05$). La suplementación con colesterol en la dieta de los conejos pertenecientes a los grupos colesterol, Sideritis y simvastatina dio como resultado un incremento significativo en los niveles de CT en suero para éstos grupos experimentales con respecto al grupo control (test U de Mann—Whitney, $p < 0,05$).

4.3. Análisis de c-HDL en suero

Una vez obtenida la ecuación de la recta de calibrado para el c-HDL, cuyos datos se pueden visualizar en el cuadro 3.4 del apartado de Material y Métodos, se procedió al cálculo de las concentraciones de c-HDL para cada una de las muestras de suero de los conejos. Los cuadros

4.13, 4.14, 4.15 y 4.16 muestran éstos valores, expresados en mg/ml. Los valores negativos de ΔC y de $\% \Delta C$ indican una disminución y los positivos reflejan un incremento de las concentraciones.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
1	25,44	24,50	20,75	-4,69	-18,43
2	24,50	21,38	16,38	-8,13	-33,16
3	31,06	22,31	21,06	-10,00	-32,19
4	26,69	20,44	17,63	-9,06	-33,96
5	22,63	17,63	14,81	-7,81	-34,53
6	29,19	11,69	23,56	-5,63	-19,27
7	27,63	19,19	17,00	-10,63	-38,46
8	28,25	21,69	–	–	–
9	22,00	14,81	13,56	-8,44	-38,35
10	16,69	12,94	12,31	-4,38	-26,22
\bar{C}	25,41	18,65	17,45	-7,64	-30,51
DE	3,96	4,28	3,73	2,26	7,53

Tabla 4.13: Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
11	25,44	167,94	163,88	138,44	544,23
12	19,50	18,88	19,81	0,31	1,60
13	27,94	53,56	90,75	62,81	224,83
14	22,31	77,63	84,50	62,19	278,71
15	19,50	39,19	56,06	36,56	187,50
16	27,00	44,50	70,44	43,44	160,88
17	26,06	55,44	104,81	78,75	302,16
18	18,25	74,50	106,69	88,80	486,58
19	19,19	22,63	21,06	1,88	9,77
20	21,69	21,06	84,19	62,50	288,18
21	27,00	102,63	172,94	145,94	540,51
22	19,50	23,88	52,63	33,13	169,87
\bar{C}	22,78	58,48	85,65	62,86	266,07
DE	3,65	43,29	47,94	45,83	182,46

Tabla 4.14: Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
23	15,75	15,44	33,25	17,50	111,11
24	30,75	22,00	21,38	-9,38	-30,49
25	24,81	26,06	38,88	14,06	56,68
26	27,94	59,81	118,56	90,63	324,38
27	29,50	51,06	61,69	32,19	109,11
28	19,81	111,06	160,75	140,94	711,36
29	33,88	24,19	24,81	-9,06	-26,75
30	23,88	56,69	43,88	20,00	83,77
31	23,25	25,13	76,38	53,13	228,50
32	17,63	13,25	14,50	-3,13	-17,73
33	31,69	89,19	—	—	—
34	15,44	98,56	158,88	143,44	929,15
\bar{C}	24,53	49,37	68,45	44,57	225,37
<i>DE</i>	6,36	34,31	53,91	56,34	316,94

Tabla 4.15: Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
35	17,63	27,63	24,19	6,56	37,24
36	30,44	77,31	136,06	105,63	347,02
37	27,94	77,94	113,25	85,31	305,36
38	21,38	22,94	19,81	-1,56	-7,31
39	25,13	27,94	15,13	-10,00	-39,80
40	30,13	119,19	132,00	101,88	338,17
41	29,81	41,38	76,69	46,88	157,23
42	25,13	30,75	109,19	84,06	334,58
43	34,19	23,56	25,44	-8,75	-25,59
44	25,44	22,63	20,13	-5,31	-20,89
45	26,06	20,75	47,00	20,94	80,33
46	23,88	106,38	143,25	119,38	500,00
\bar{C}	26,43	49,87	71,84	45,42	167,20
<i>DE</i>	4,45	35,62	51,89	50,69	188,25

Tabla 4.16: Valores de concentración de c-HDL en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Las figuras 4.5, 4.6, 4.7 y 4.8 representan los valores de concentración de c-HDL frente a semana de extracción de la muestra.

4.3.1. Grupo control

Se aprecia una disminución de los valores de c-HDL en todos los conejos del grupo control desde la semana 0 hasta la semana 10, pero en el caso del conejo 6 hay una diferencia, y es que incrementa su valor de c-HDL desde 11,69 mg/ml en la semana 5 hasta 23,56 mg/ml en la semana 10, siendo al final el saldo negativo, ya que disminuye mucho desde la semana 0 a la semana 5. Los valores máximo y mínimo encontrados en este grupo fueron 31,06 y 11,69 mg/ml, respectivamente. El porcentaje de disminución de c-HDL fue de un $30,51 \pm 7,53$ %.

4.3.2. Grupo colesterol

Todos los conejos de este grupo incrementan sus niveles de c-HDL a lo largo de la fase experimental. La figura 4.6 muestra los incrementos alcanzados en los valores de c-HDL para los conejos del grupo colesterol, siendo el conejo 11 el que experimentó un aumento más acusado. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 172,94 y 18,25 mg/ml, respectivamente. El porcentaje de incremento de la concentración de c-HDL en este grupo fue de un

$266,07 \pm 182,46$ %.

4.3.3. Grupo Sideritis

Se observa un incremento generalizado de los niveles de c-HDL en los animales pertenecientes a este grupo, salvo en los conejos 24, 29 y 32, que alcanzaron los valores 30,75; 22,00 y 21,38 mg/ml, 33,88; 24,19 y 24,81 mg/ml y 17,63; 13,25 y 14,50 mg/ml, respectivamente. Un 75,00 % de este grupo de conejos incrementó los niveles de c-HDL. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 160,75 y 13,25 mg/ml, respectivamente. El porcentaje incremental fue de un $225,37 \pm 316,94$ %.

4.3.4. Grupo simvastatina

Apreciamos un aumento de los niveles de c-HDL en casi todos los conejos, salvo en los conejos 38, 39, 43 y 44, que alcanzaron los siguientes valores: 21,38; 22,94 y 19,81 mg/ml; 25,13;

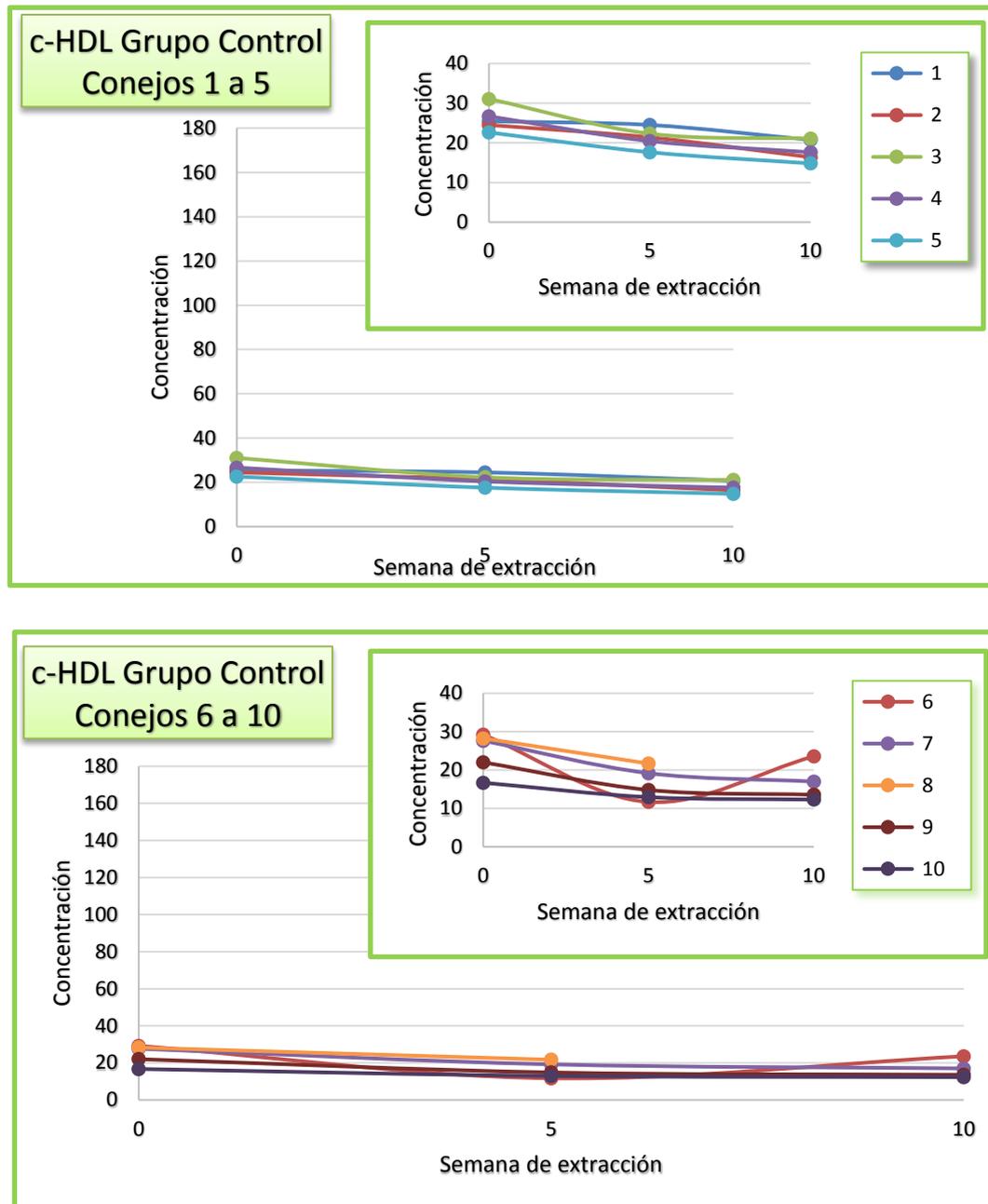


Figura 4.5: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo control.

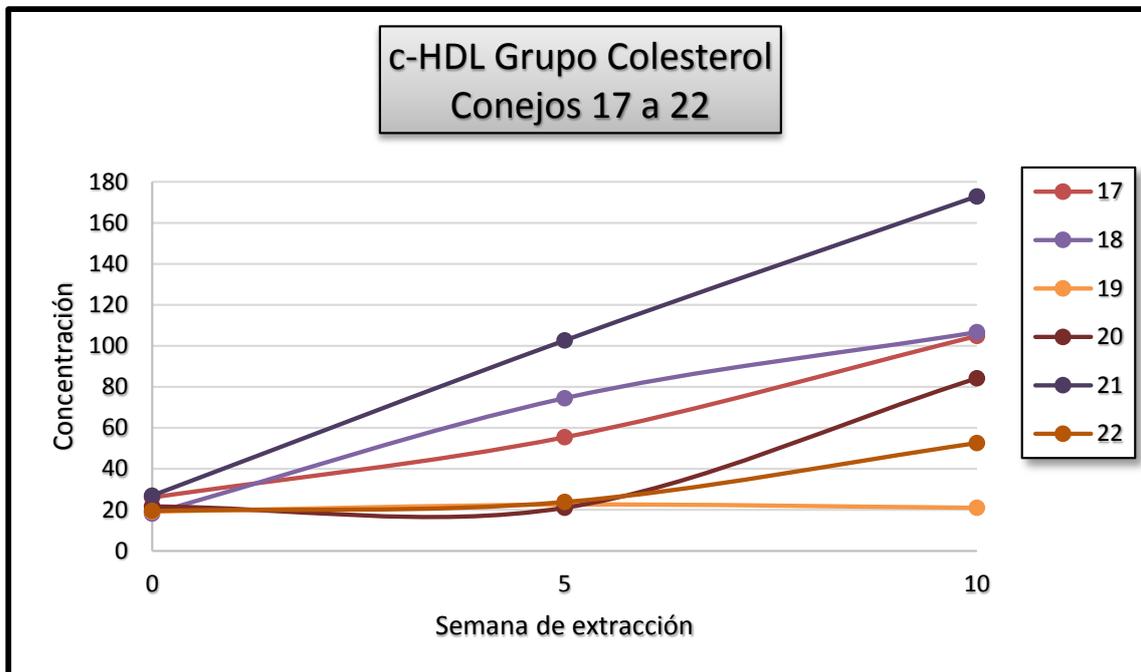
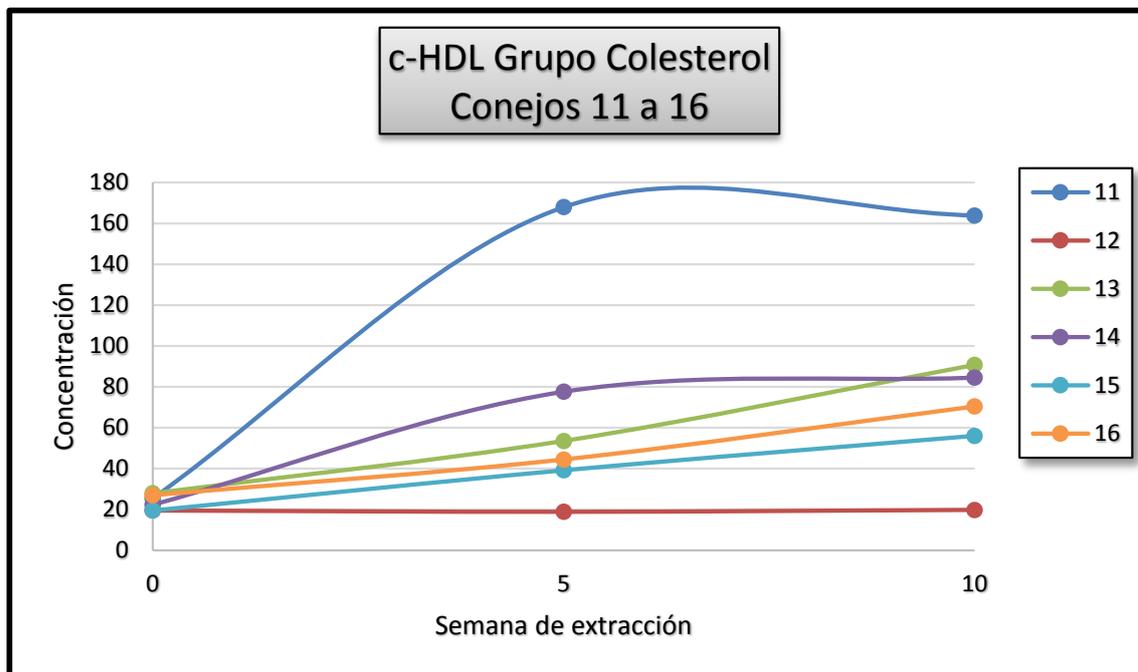


Figura 4.6: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo colesterol.

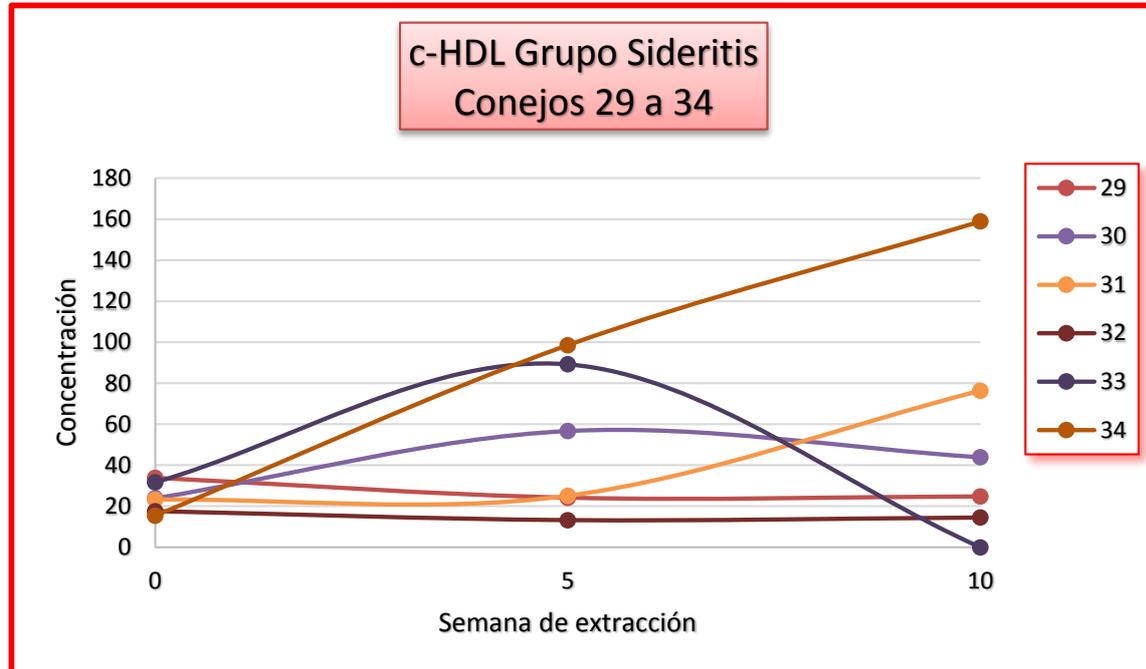
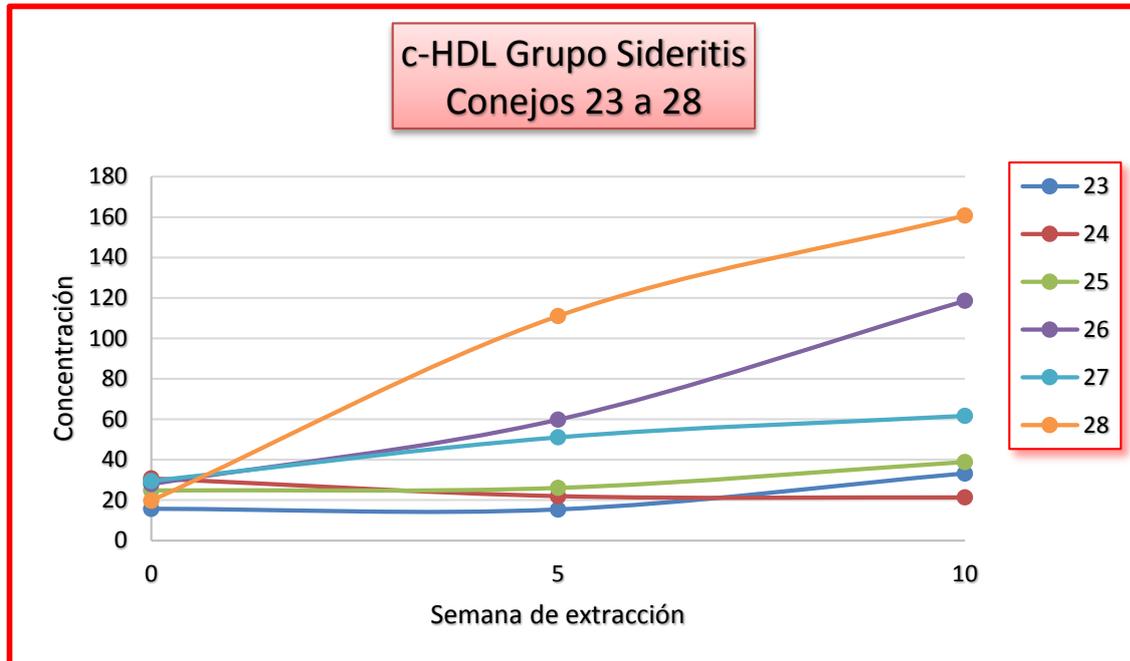


Figura 4.7: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.

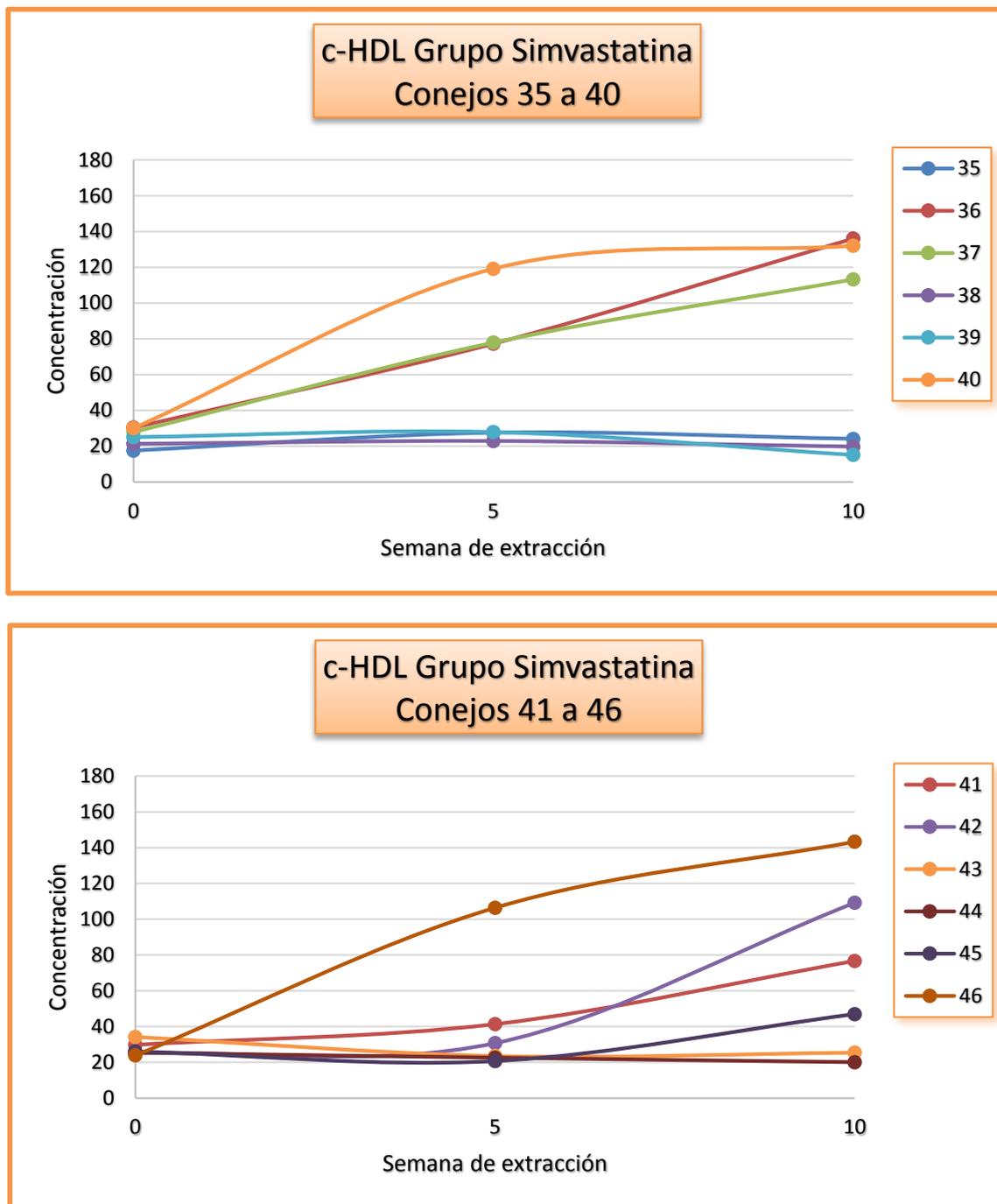


Figura 4.8: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-HDL frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.

27,94 y 15,13 mg/ml; 34,19; 23,56 y 25,44 mg/ml; 25,44; 22,63 y 20,13 mg/ml, respectivamente. Este hecho se observa en la gráfica 4.8. Un 66,6 % de los conejos incrementaron los valores de c-HDL durante el período experimental, en un $167,20 \pm 188,25$ %. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 143,25 y 15,13 mg/ml, respectivamente.

El grupo que alcanzó un menor incremento de los niveles de c-HDL fue el grupo control ya que, como cabría esperar, ningún conejo incrementa dichos niveles. El grupo colesterol fue el que presentó al final del período experimental mayor incremento de los niveles de c-HDL. Los grupos Sideritis y simvastatina alcanzaron valores intermedios, con un 75 y 66,6 % de los animales en un $225,37 \pm 316,94$ % y $167,20 \pm 188,25$ %, respectivamente.

4.3.5. Análisis estadístico

El análisis de los datos mediante el test de Friedman no mostró diferencias significativas en los niveles de c-HDL a lo largo de las semanas 0,5 y 10 del período experimental, y los valores obtenidos estuvieron muy cercanos al nivel de significación ($p < 0,05$). Posteriormente, la aplicación del test de Wilcoxon, sí reveló diferencias significativas entre los tres grupos de datos, para una $p < 0,05$. El test de Kruskal—Wallis mostró diferencias significativas en los niveles de c-HDL entre los distintos grupos experimentales, que alcanzaron el nivel de significación ($p < 0,05$). Por su parte, la aplicación del test U de Mann—Whitney dió como resultado la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los niveles de c-HDL alcanzados por los grupos colesterol, Sideritis y simvastatina, con respecto al grupo control. También los grupos Sideritis y simvastatina mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de c-HDL con respecto al grupo colesterol.

4.4. Análisis de c-LDL en suero

La recta de calibrado obtenida para c-LDL, cuyos datos se pueden visualizar en el cuadro 3.6, incluido en el apartado de Material y Métodos, permitió el cálculo de las concentraciones de c-LDL para cada una de las muestras de suero de los conejos. Los valores de estas concentraciones se hallan especificados en los cuadros 4.17, 4.18, 4.19 y 4.20, expresándose en mg/ml. Los valores negativos de ΔC y de $\% \Delta C$ indican una disminución de la concentración a lo largo de las semanas y los positivos informan de la existencia un incremento.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
1	54,03	38,52	41,62	-12,41	-22,97
2	34,72	42,31	34,38	-0,35	-0,99
3	45,41	33,00	27,14	-18,28	-40,24
4	36,10	30,24	24,03	-12,07	-33,43
5	43,35	34,03	31,28	-12,07	-27,84
6	40,59	30,24	45,07	4,48	11,05
7	36,45	41,97	39,55	3,10	8,52
8	34,38	55,41	—	—	—
9	30,93	31,97	35,07	4,14	13,38
10	30,59	25,07	23,00	-7,59	-24,80
\bar{C}	38,66	36,28	33,46	-5,67	-13,04
DE	7,29	8,65	7,79	8,62	20,92

Tabla 4.17: Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
11	44,03	400,93	316,79	272,76	619,43
12	37,14	136,45	51,97	14,83	39,92
13	35,41	200,59	249,55	214,14	604,67
14	31,28	199,90	210,59	179,31	573,32
15	48,17	137,14	121,28	73,11	151,77
16	30,59	117,14	140,59	110,00	359,64
17	56,10	166,10	289,90	233,79	416,72
18	35,41	185,07	220,93	185,52	523,85
19	34,72	111,62	96,45	61,72	177,76
20	55,00	122,66	189,21	133,79	241,44
21	133,00	307,14	469,55	336,55	253,05
22	36,79	117,14	210,93	174,14	473,29
\bar{C}	48,14	183,49	213,98	165,80	369,57
DE	28,08	88,15	111,86	92,71	195,17

Tabla 4.18: Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
23	28,86	54,72	101,97	73,10	253,28
24	43,35	83,69	51,28	7,93	18,30
25	33,35	94,03	107,83	74,48	223,37
26	42,31	299,21	355,76	313,45	740,83
27	50,93	137,14	140,59	89,66	176,03
28	32,66	233,35	274,03	241,38	739,18
29	40,59	71,97	48,52	7,93	19,54
30	36,45	163,35	140,59	104,12	285,72
31	44,03	200,24	288,52	244,48	555,21
32	35,76	65,41	74,38	38,62	108,00
33	38,52	159,55	–	–	–
34	76,45	203,69	268,17	191,72	250,79
\bar{C}	41,94	147,20	168,33	126,08	306,39
<i>DE</i>	12,40	76,76	108,26	104,68	259,39

Tabla 4.19: Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo *Sideritis* en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
35	38,86	103,69	81,28	42,41	109,14
36	42,31	203,69	327,83	285,52	674,82
37	42,31	158,52	204,72	162,41	383,87
38	32,66	63,35	51,62	18,97	58,08
39	40,59	97,14	24,04	-16,55	-40,78
40	47,14	222,66	192,31	145,17	307,97
41	40,24	113,35	144,03	103,79	257,93
42	44,38	130,93	222,31	177,93	400,94
43	43,69	76,79	95,76	52,07	119,18
44	37,83	73,00	62,31	24,48	64,72
45	46,79	97,48	129,90	83,10	177,60
46	37,14	230,24	297,83	260,69	701,95
\bar{C}	41,16	130,90	152,83	111,67	267,95
<i>DE</i>	4,19	59,16	97,58	96,47	237,97

Tabla 4.20: Valores de concentración de c-LDL en suero para el grupo *simvastatina* en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Las representaciones gráficas obtenidas a partir de los valores de c-LDL en suero frente a la semana de extracción de las muestras fueron las que se presentan en las figuras 4.9, 4.10, 4.11 y 4.12.

4.4.1. Grupo control

En la mayoría de los conejos se aprecia una disminución de los valores de c-LDL a medida que pasa el tiempo, salvo en los conejos 6, 7, 8 y 9, que incrementan estos valores (40,59; 30,24 y 45,07 mg/ml; 36,45; 41,97 y 39,55 mg/ml; 34,38 y 55,41 mg/ml; 30,93; 31,97 y 35,07 mg/ml, respectivamente). Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 55,41 mg/ml y 23,00 mg/ml, respectivamente. Un 60,00 % de los individuos disminuyó los niveles de este parámetro en un $13,04 \pm 20,92$ %.

4.4.2. Grupo colesterol

Todos los conejos incrementan los valores de c-LDL al final del tratamiento, sin embargo sólo un 7,14 % de los conejos disminuyó los valores de c-LDL con respecto a la semana 5. Los conejos 11 y 21 son los que alcanzaron valores más elevados (figura 4.10). El valor medio del incremento de c-LDL total fue de $369,57 \pm 195,17$ % desde los inicios hasta la semana 10 del tratamiento. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 469,55 y 34,72 mg/ml, respectivamente.

4.4.3. Grupo Sideritis

Los valores de c-LDL se incrementan en todos los conejos del grupo Sideritis en el período comprendido entre la semana 0 y la semana 5 de forma brusca. A partir de la semana 5, los valores siguen incrementándose muy levemente hasta la semana 10, salvo en los conejos 24, 29 y 30, que experimentan un incremento en la semana 5 y posterior disminución en la semana 10 (43,35; 83,69 y 51,28 mg/ml, 40,59; 71,97 y 48,52 mg/ml y 36,45; 163,35 y 140,59 mg/ml en las semanas 0, 5 y 10, respectivamente). Un 33,3 % de los conejos disminuyó los niveles de c-LDL. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 355,76 y 28,86 mg/ml, respectivamente. El valor medio del incremento total de este parámetro fue de $306,39 \pm 259,39$ %, menor que el alcanzado en el grupo colesterol.

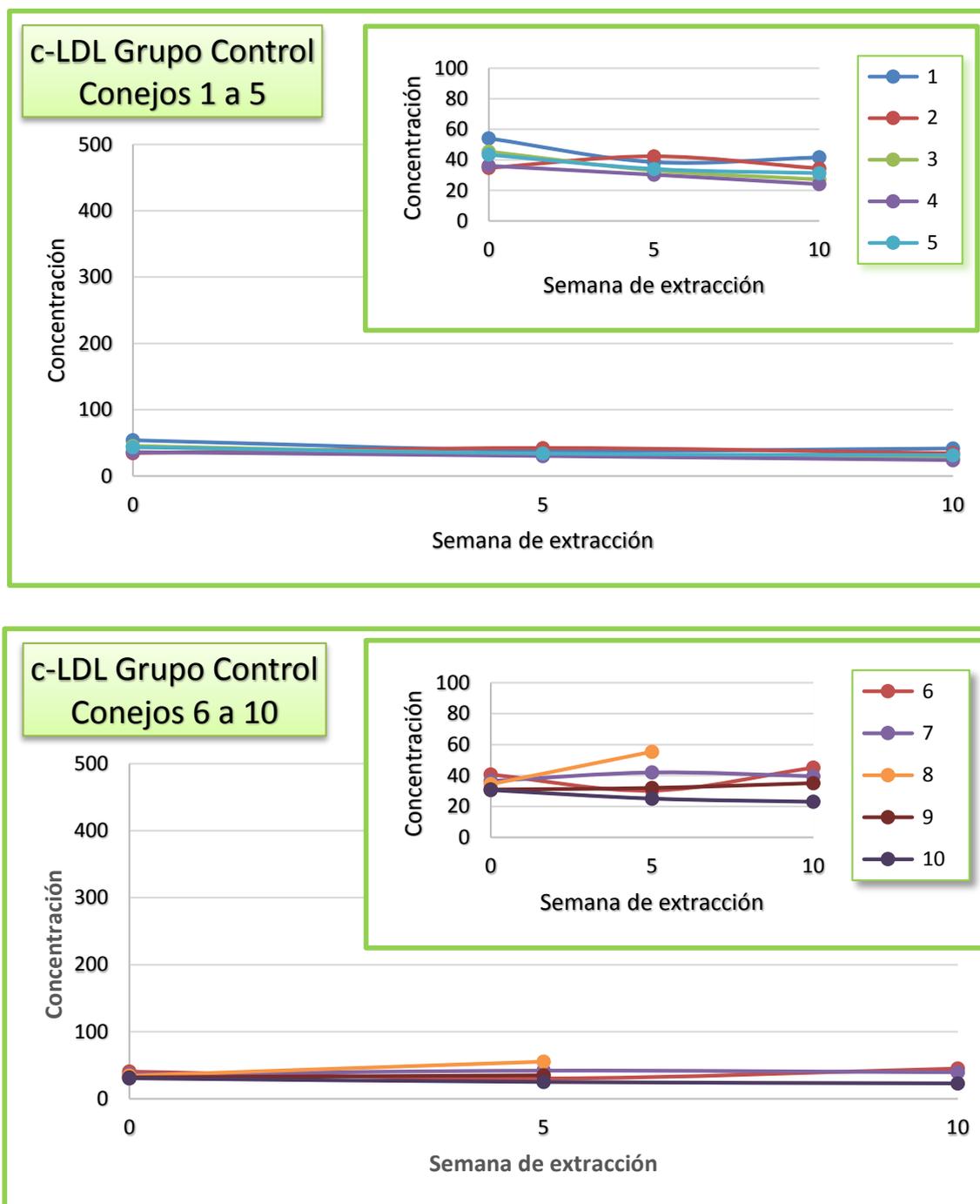


Figura 4.9: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo control.

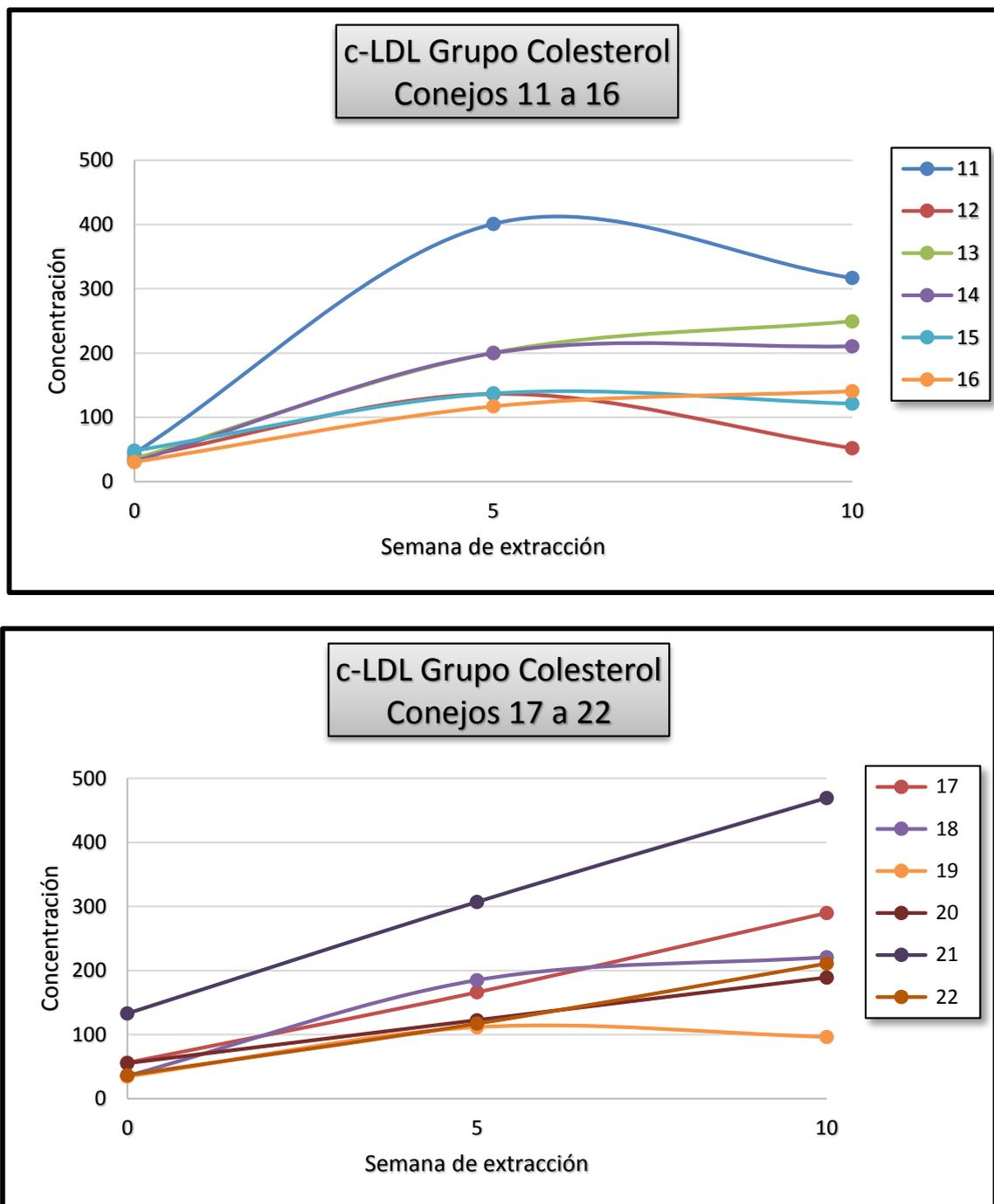


Figura 4.10: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo colesterol.

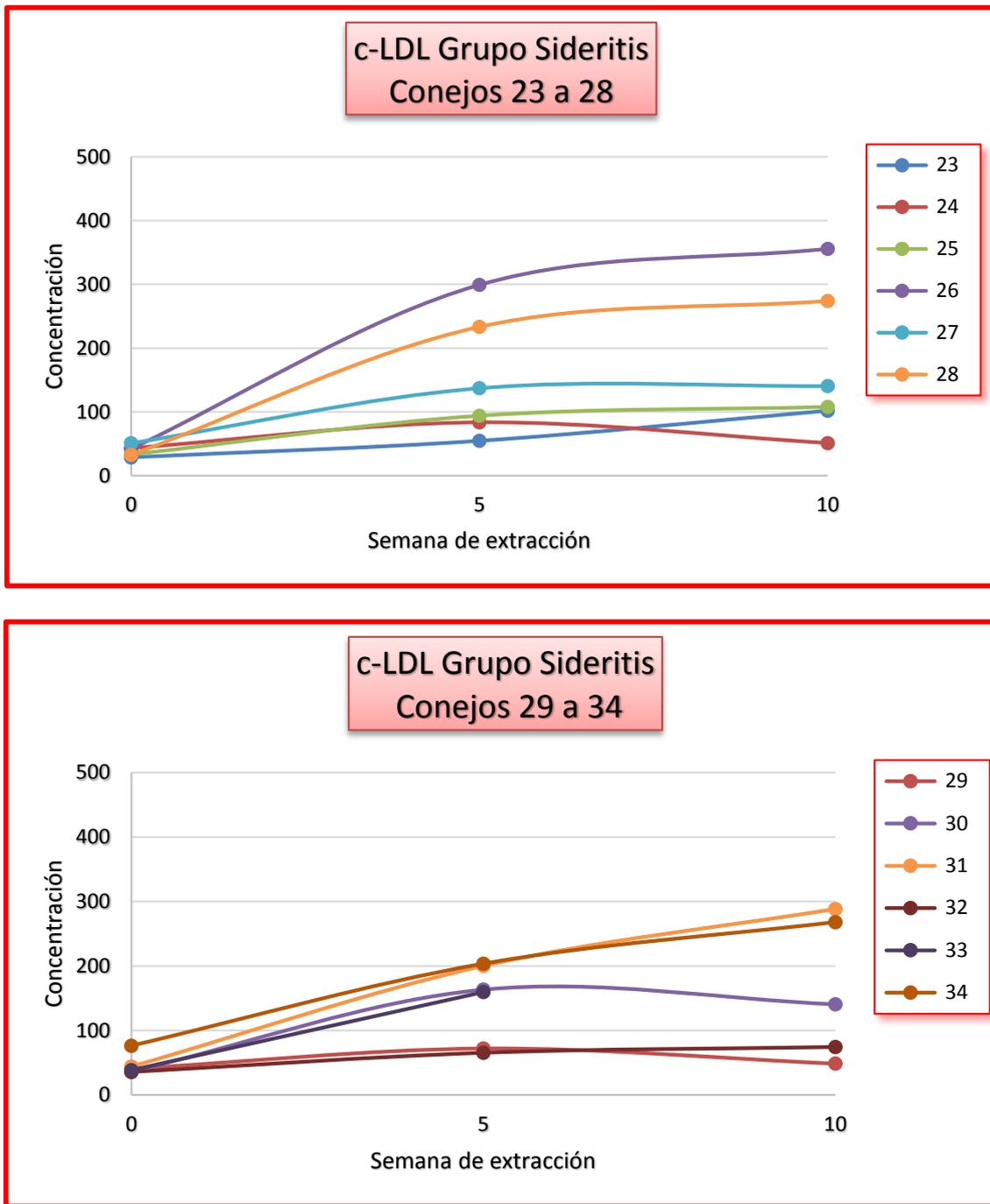


Figura 4.11: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.

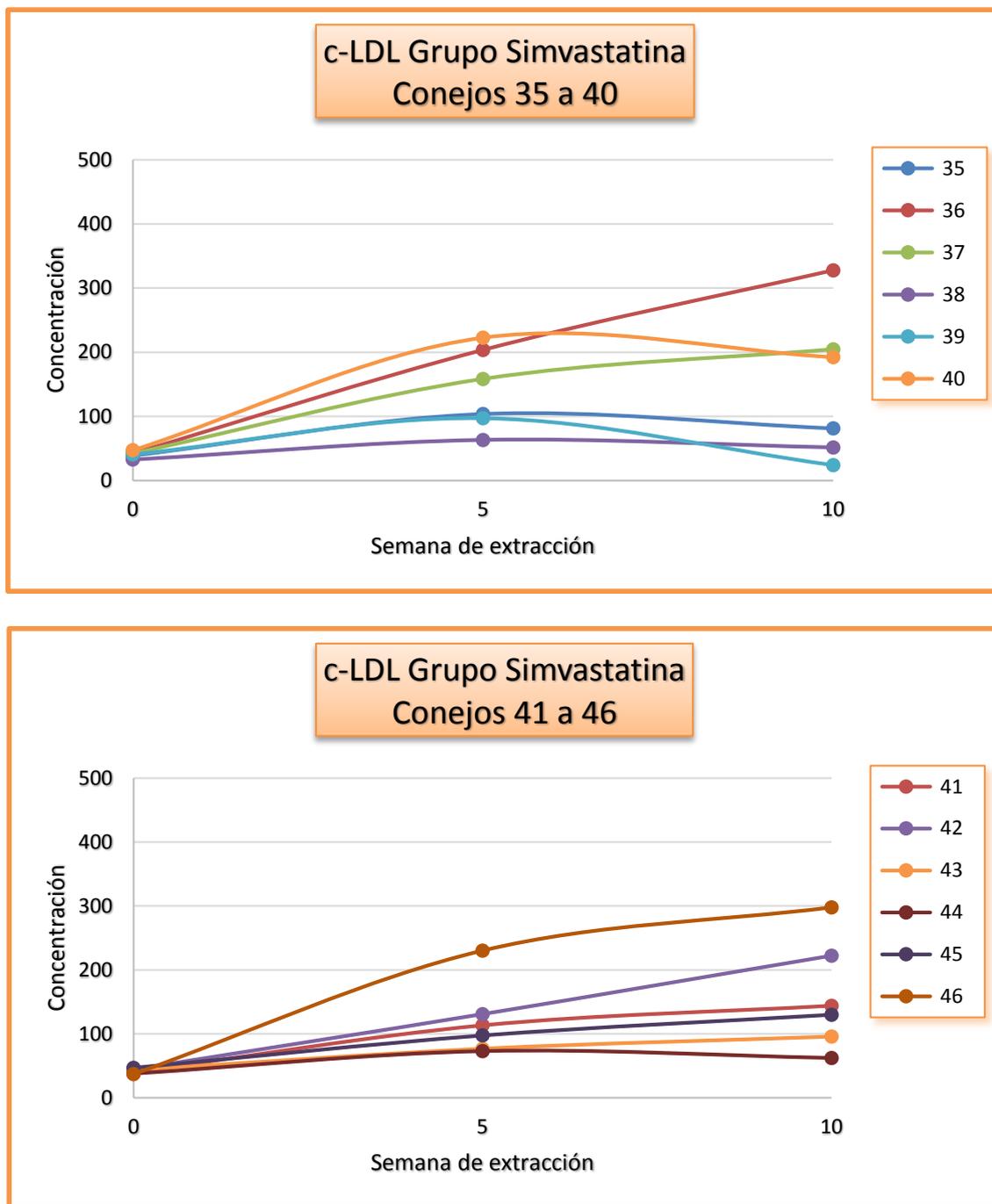


Figura 4.12: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de c-LDL frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.

4.4.4. Grupo simvastatina

Se produce un incremento de los niveles de c-LDL en los animales pertenecientes al grupo simvastatina en la semana 5. A partir de este tiempo hasta la semana 10, los conejos 35, 38, 39, 40 y 44 disminuyeron este valor. Un 41,66 % de los conejos disminuyó la concentración de c-LDL al final del tratamiento con simvastatina. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron de 327,83 y 24,04, respectivamente. La tendencia generalizada en este grupo fue de un incremento de este parámetro, en un $267,95 \pm 237,97\%$, mucho menor que el incremento que se produjo en el grupo colesterol y similar al grupo Sideritis.

4.4.5. Análisis estadístico

La aplicación posterior del test de Kruskal—Wallis demostró la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) para los niveles de c-LDL entre los distintos grupos de tratamiento. El test de Mann—Whitney determinó que las diferencias se establecían entre los grupos Sideritis y simvastatina, con respecto a los grupos control y colesterol.

Se hallaron diferencias significativas en las concentraciones de c-LDL a lo largo de las semanas para los distintos grupos experimentales (test de Friedman, $p < 0,05$). Los niveles de c-LDL se incrementaron de forma significativa hacia la mitad y la finalización del tratamiento (semanas 5 y 10 del período experimental), con respecto al inicio del estudio (semana 0). En la semana 10 también se incrementó de forma significativa la concentración de c-HDL con respecto a la semana 5 (test de Wilcoxon, $p < 0,05$).

4.5. Análisis de TG en suero

La ecuación de la recta obtenida para los TG, cuyos valores se encuentran plasmados en el cuadro 3.8 capítulo anterior (Material y Métodos), nos permitió calcular las concentraciones de TG de cada muestra de suero de todos los conejos. Los resultados experimentales obtenidos de los valores de concentración de triglicéridos para los distintos grupos de conejos en suero en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental es la que se presenta en las tablas 4.21, 4.22, 4.23 y 4.24. La concentración está expresada en mg/ml. Los valores de ΔC y de $\% \Delta C$ están en signo negativo cuando expresan una disminución de la concentración, y se hallan en signo positivo cuando nos indican un incremento de dicha concentración.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
1	260,12	70,12	95,41	-164,71	-63,32
2	60,12	71,29	71,29	11,18	18,59
3	107,18	48,35	51,29	-55,88	-52,14
4	100,12	48,94	42,47	-57,65	-57,58
5	70,12	59,53	71,88	1,76	2,52
6	61,29	89,53	73,06	11,77	19,19
7	88,35	69,53	61,88	-26,47	-29,96
8	90,71	62,47	—	—	—
9	68,94	63,65	93,65	24,71	35,84
10	82,47	36,59	45,41	-37,06	-44,94
\bar{C}	98,94	62,00	67,37	-32,48	-19,09
DE	58,84	14,83	19,16	58,13	38,22

Tabla 4.21: Valores de concentración de TG en suero para el grupo control en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	$\% \Delta C$ (%)
11	156,59	86,00	96,00	-60,59	-38,69
12	87,77	61,88	81,29	-6,47	-7,37
13	93,06	40,71	53,65	-39,41	-42,35
14	51,29	64,24	64,24	12,94	25,23
15	50,71	42,47	53,65	2,94	5,80
16	68,35	50,71	80,71	12,35	18,07
17	251,88	48,94	86,00	-165,88	-65,86
18	62,47	39,53	67,18	4,71	7,53
19	119,53	36,59	43,65	-75,88	-63,48
20	175,41	31,88	51,88	-123,53	-70,42
21	87,77	57,18	53,65	-34,12	-38,87
22	156,00	60,12	90,12	-65,88	-42,23
\bar{C}	113,40	51,69	68,50	-44,90	-26,05
DE	60,96	15,14	17,63	56,78	34,21

Tabla 4.22: Valores de concentración de TG en suero para el grupo colesterol en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
23	94,24	52,47	106,00	11,77	12,49
24	106,59	48,94	61,88	-44,71	-41,94
25	86,00	51,88	61,88	-24,12	-28,04
26	146,00	54,24	66,59	-79,41	-54,39
27	82,47	44,82	67,77	-14,71	-17,83
28	52,47	101,88	142,47	90,00	171,52
29	86,00	57,18	60,71	-25,29	-29,41
30	127,18	48,35	56,59	-70,59	-55,50
31	170,71	80,12	68,35	-102,35	-59,96
32	118,94	31,29	45,41	-73,53	-61,82
33	53,06	53,06	—	—	—
34	61,88	51,29	115,41	53,53	86,50
\bar{C}	98,79	56,29	77,55	-25,40	-7,13
DE	36,79	18,08	30,01	58,83	73,27

Tabla 4.23: Valores de concentración de TG en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
35	90,12	62,47	131,29	41,18	45,69
36	130,12	51,88	126,00	-4,12	-3,17
37	138,35	63,06	94,24	-44,12	-31,89
38	114,24	49,53	48,94	-65,29	-57,16
39	162,47	53,65	53,06	-109,41	-67,34
40	61,88	82,47	113,06	51,18	82,70
41	81,88	48,35	63,65	-18,24	-22,27
42	85,41	76,00	109,53	24,12	28,24
43	107,18	54,82	45,41	-61,76	-57,63
44	114,82	36,59	46,00	-68,82	-59,94
45	136,59	36,59	47,77	-88,82	-65,03
46	88,35	60,71	80,71	-7,65	-8,66
\bar{C}	109,28	56,34	79,97	-29,31	-18,04
DE	29,06	13,79	33,39	51,89	48,96

Tabla 4.24: Resultados experimentales obtenidos de los valores de concentración de TG en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Las representaciones gráficas correspondientes a las concentraciones de triglicéridos en suero (mg/ml) frente a semana de extracción de la muestra se visualizan en las figuras 4.13, 4.14, 4.15 y 4.16.

4.5.1. Grupo control

En la mayor parte de los individuos del grupo se observa una disminución de los valores séricos de TG desde los inicios hasta la semana 5. A partir de la semana 5 hasta la semana 10, los conejos 1, 3, 5, 9 y 10 incrementan de nuevo el valor de triglicéridos, mientras que los conejos 4 y 7 lo disminuyen. La tendencia general en este grupo es de disminución de los niveles de TG. Los conejos 2 y 6 también incrementan de forma significativa el valor de TG, desde el inicio del período experimental hasta la semana 5, manteniéndose este valor estable (conejo 2), o disminuyendo (conejo 6) en el período comprendido entre la semana 5 y 10. En la figura 4.13 se observa que el conejo 1 presenta unos triglicéridos iniciales más elevados que en el resto de los conejos, mostrando posteriormente en la semana 5 un valor similar al resto de los individuos de su grupo. Los valores máximo y mínimo obtenidos en este grupo fueron 260,12 y 36,59 mg/ml, respectivamente. Un 80,00 % de los conejos de este grupo disminuyen al final del período experimental los niveles de TG. En el conjunto del grupo esta disminución es de un $19,09 \pm 38,22$ %.

4.5.2. Grupo colesterol

En todos los conejos (menos uno) se produce una disminución de los niveles de TG en el período comprendido entre la semana 0 y la semana 5, aumentando posteriormente sus valores hasta la semana 10, no alcanzando en la mayoría de los casos niveles tan elevados como los iniciales. Solamente el conejo 14, incrementa sus valores de triglicéridos hasta la semana 5 y se mantiene estable hasta la semana 10. El conejo 17 presenta un valor inicial de triglicéridos más elevado que el resto de los conejos (figura 4.14). La tendencia general en este grupo es de disminución, en un $26,05 \pm 34,21$ %. Los valores máximo y mínimo que encontramos en este grupo experimental fueron 251,88 y 31,88, respectivamente.

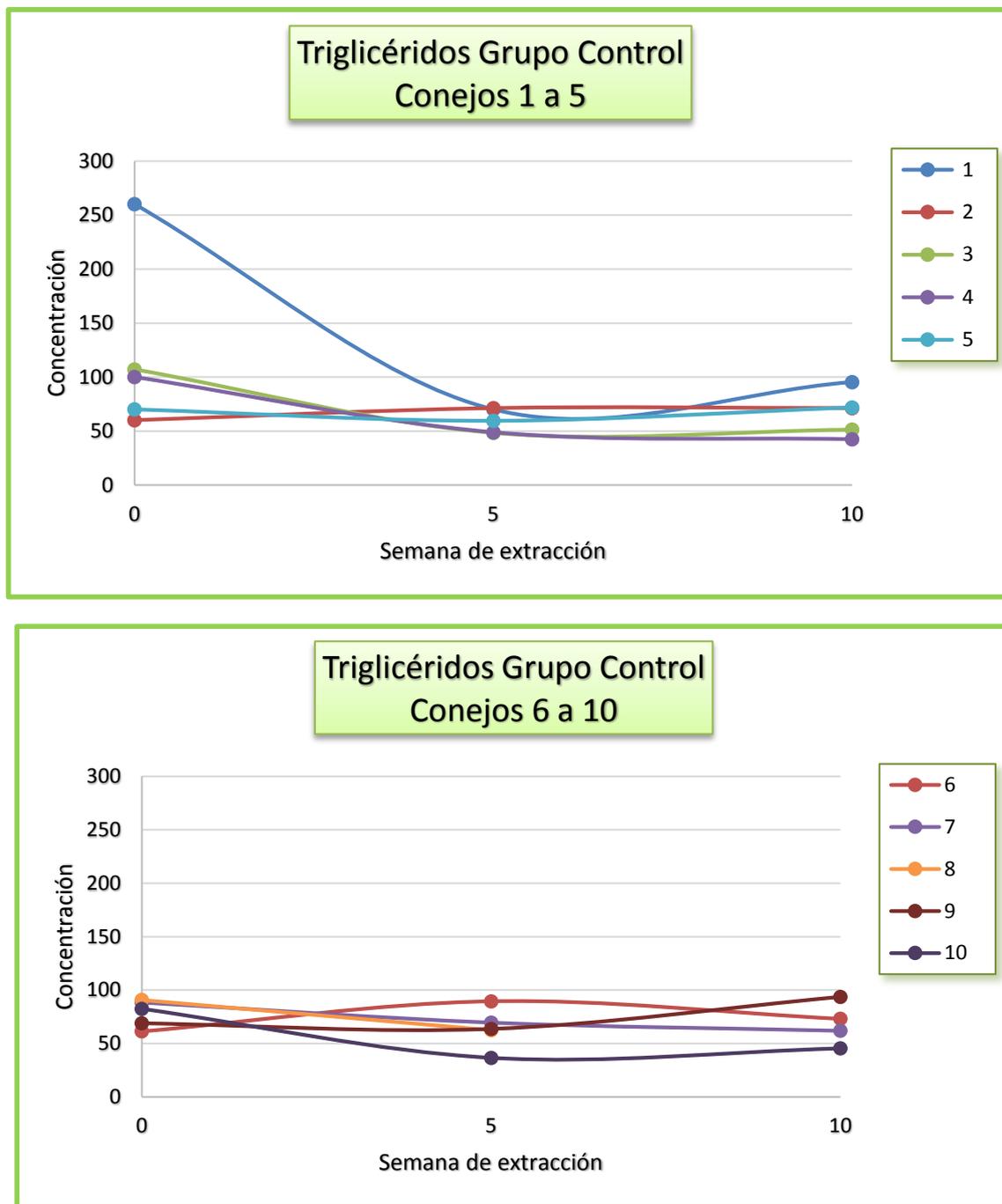


Figura 4.13: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo control.

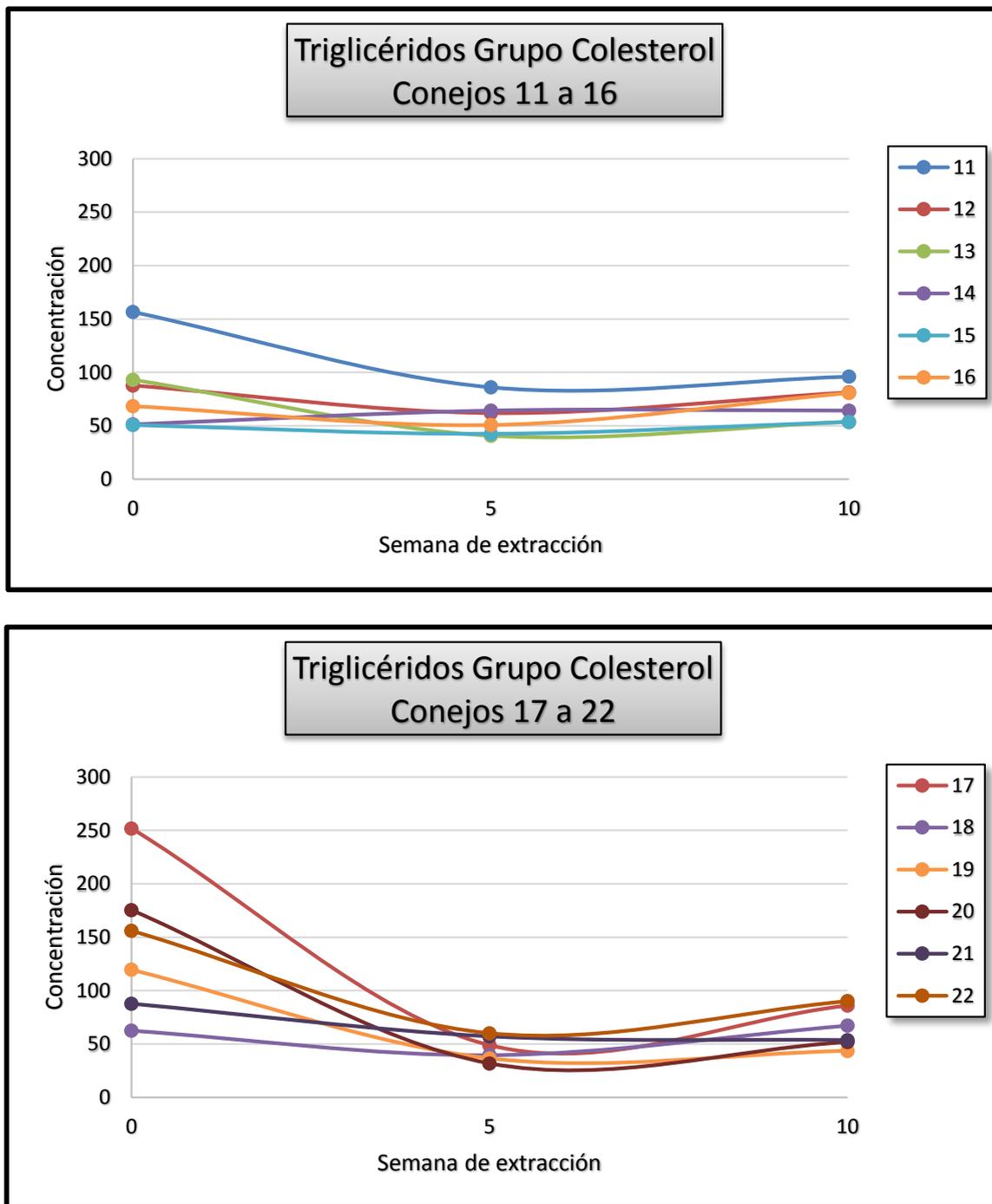


Figura 4.14: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo colesterol.

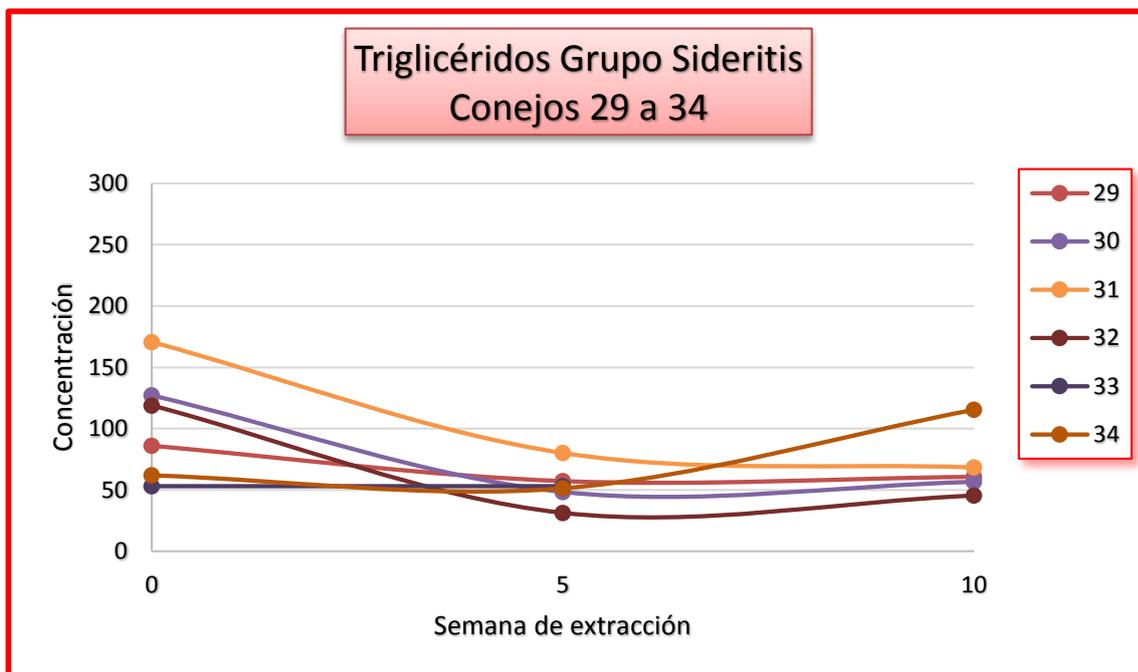
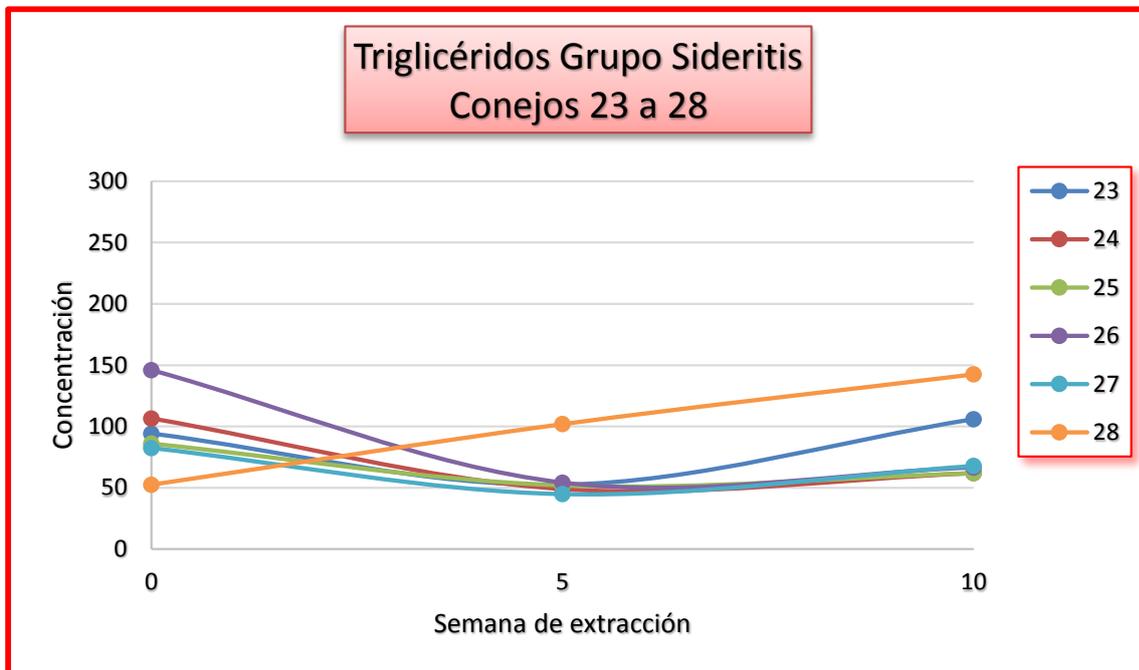


Figura 4.15: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.

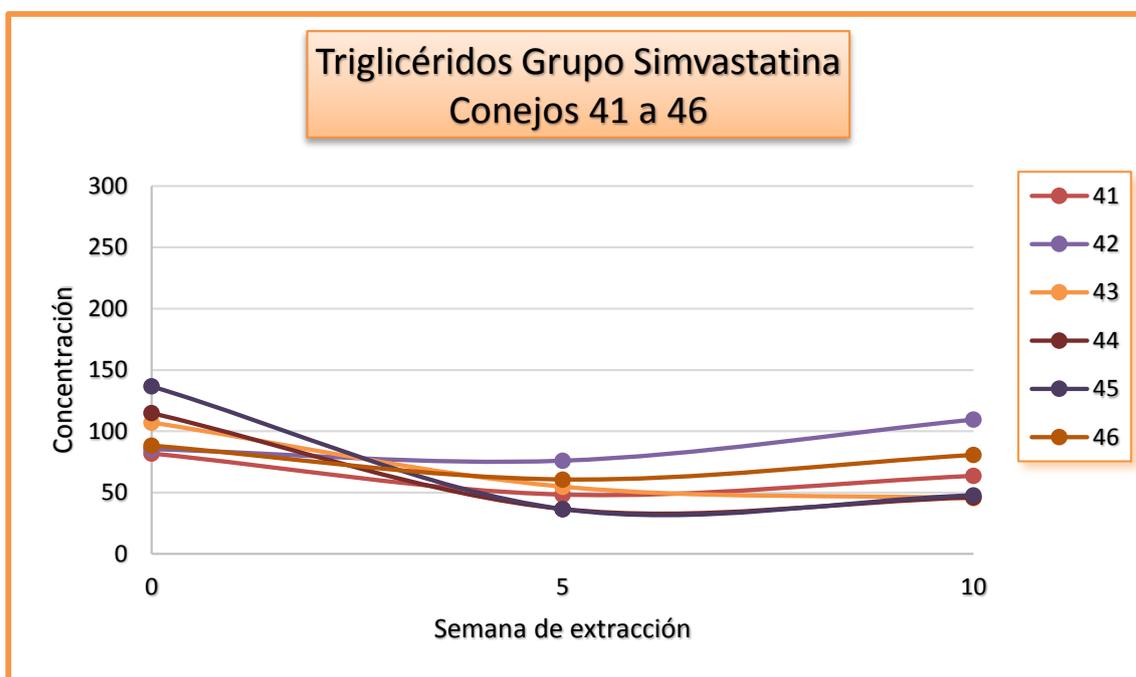
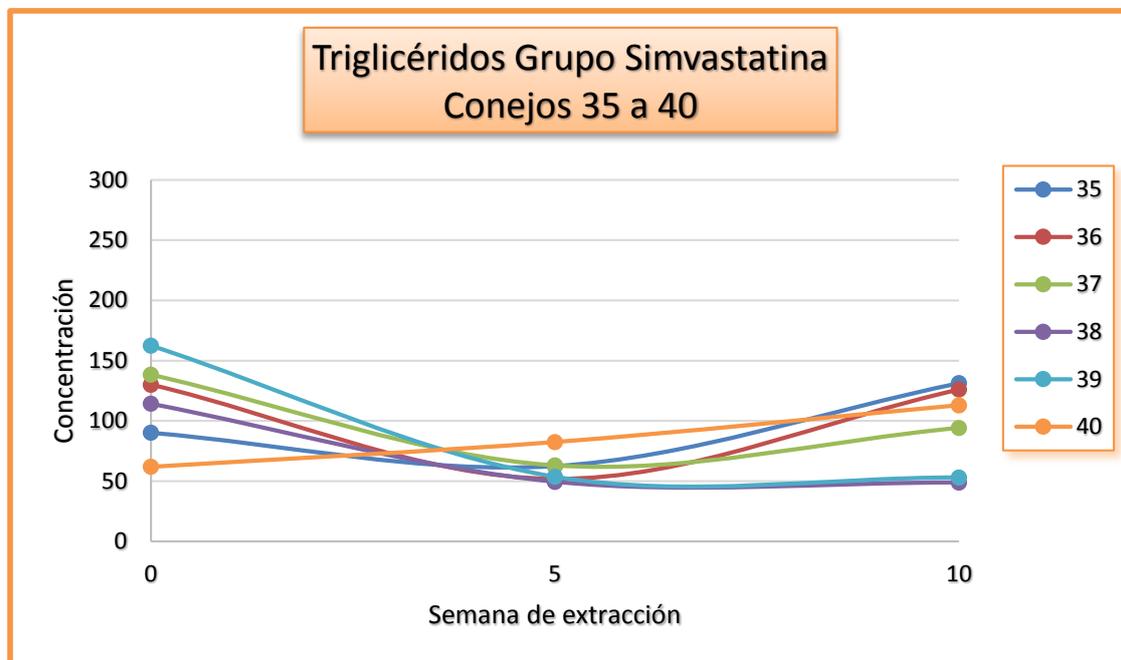


Figura 4.16: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de TG frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.

4.5.3. Grupo Sideritis

En la mayor parte de los conejos se produce una disminución inicial de los niveles de TG, generando un pequeño incremento posterior, pero sin alcanzar los niveles iniciales. En el conejo 28 se produce un incremento de los valores en todo el período experimental (52,47; 101,88 y 142,47 mg/ml). Los conejos 23 y 34 disminuyen los valores al inicio, para luego incrementarlo (94,24; 52,47 y 106,00 mg/ml en el primero y 61,88; 51,29 y 115,41 mg/ml en el segundo, en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental). Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo de conejos fueron 170,71 y 22,38 mg/ml, respectivamente. La tendencia general es de disminución de los niveles de TG, siendo ésta de un $7,13 \pm 73,27\%$.

4.5.4. Grupo simvastatina

En la mayor parte de los conejos hay una disminución de los niveles de triglicéridos desde la semana 0 hasta la semana 5. En las semanas 5 a 10 se produce un incremento de estos niveles, pero sin alcanzar los niveles iniciales. Hay dos conejos en los que ese incremento posterior da como resultado unos niveles superiores a los iniciales. Esto ocurre en los conejos 35 y 42 (90,14; 62,47 y 131,29 mg/ml y 85,41; 76,00 y 109,53 mg/ml, respectivamente).

Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo experimental fueron 162,47 y 36,59 mg/ml, respectivamente. Un 75,00 % de los conejos de este grupo disminuye los niveles de TG al final del período experimental, siendo la disminución media del grupo de $18,04 \pm 48,96\%$.

La proporción de animales que disminuyen los niveles de TG es la misma en los grupos Sideritis y simvastatina (75,00 %) y es muy parecida a los individuos del grupo control (80,00 %), siendo esta disminución de un $7,13 \pm 73,27\%$ (grupo Sideritis), $18,04 \pm 48,96\%$ (grupo simvastatina) y 19,09 (grupo control). Los conejos del grupo colesterol disminuyen los valores de TG desde los inicios del proceso experimental hasta la semana 5. Es a partir de esta semana cuando comienzan a incrementarse los niveles de éste parámetro en todos los conejos, considerando en este grupo que la tendencia general es de incremento de este parámetro.

4.5.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos de concentración de TG no mostró diferencias significativas para los tratamientos (test de Kruskal—Wallis, $p < 0,05$). Se observa que el grupo

colesterol presenta una mayor disminución en los niveles de TG que la obtenida en los grupos simvastatina y Sideritis, pero en un menor porcentaje de los conejos, nunca alcanzando el nivel de significación (test U de Mann—Whitney, $p < 0,05$). Mientras que en el grupo colesterol un 57,14 % de los individuos disminuyeron los niveles de triglicéridos, en los grupos Sideritis y simvastatina fue de un 75,00 %.

La aplicación del test de Friedman para buscar diferencias en los días de tratamiento mostró diferencias significativas en los niveles de TG a lo largo del período experimental. Se hallaron diferencias significativas entre todas las semanas del período experimental (test de Wilcoxon, $p < 0,05$).

4.6. Análisis de apo-B en suero

La ecuación de la recta obtenida de apo-B, cuyos datos se encuentran incluidos en el cuadro 3.10 del apartado de Material y métodos, nos permitió calcular los valores de concentración de apo-B en cada una de las muestras de suero pertenecientes a las semanas 0, 5 y 10 del período experimental de cada uno de los conejos.

Los valores que se muestran en los cuadros 4.25, 4.26, 4.27 y 4.28 reflejan las concentraciones de apo-B obtenidas en las distintas semanas de extracción en los diferentes grupos de conejos, expresados en mg/ml.

Los valores de ΔC y $\% \Delta C$ son negativos si indican una disminución y positivos si indican un incremento.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
1	5,10	5,79	5,10	0,00	0,00
2	0,62	15,10	3,03	2,41	388,57
3	32,00	13,38	12,35	-19,66	-61,42
4	27,52	34,76	39,24	11,72	42,61
5	0,62	22,35	39,93	39,31	6330,11
6	3,03	8,21	10,62	7,59	250,07
7	7,86	14,07	19,24	11,38	144,73
8	15,79	13,38	—	—	—
9	19,93	30,97	8,55	-7,24	-45,85
10	38,55	19,59	23,72	-14,83	-38,46
\bar{C}	15,10	17,76	17,98	2,95	777,97
DE	13,87	9,32	13,84	17,79	2087,82

Tabla 4.25: Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
11	22,00	29,59	34,76	12,76	58,00
12	8,55	4,41	42,35	33,79	395,15
13	26,14	35,10	39,24	16,21	62,00
14	29,93	47,17	60,62	30,69	102,53
15	16,14	23,72	35,45	19,31	119,66
16	1,31	2,35	17,52	16,21	1237,18
17	19,24	32,35	47,86	28,62	148,75
18	33,38	48,21	53,38	20,00	59,92
19	20,28	32,35	33,03	12,76	62,92
20	23,72	14,41	40,62	16,90	71,22
21	19,93	24,41	37,52	17,59	88,23
22	35,45	36,48	54,76	19,31	54,48
\bar{C}	21,34	27,55	41,43	20,34	205,00
DE	9,75	14,67	11,57	6,92	338,44

Tabla 4.26: Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
23	28,55	13,03	4,76	-23,79	-83,33
24	29,59	18,90	2,35	-27,24	-92,07
25	33,03	27,52	1,31	-31,72	-96,03
26	38,90	10,62	7,52	-31,38	-80,68
27	22,35	2,35	2,69	-19,66	-87,97
28	22,35	38,21	12,00	-10,35	-46,30
29	12,69	8,55	9,93	-2,76	-21,74
30	17,52	7,17	11,31	-6,21	-35,43
31	7,17	6,14	3,72	-3,45	-48,08
32	34,07	37,52	33,72	-0,35	-1,01
33	18,90	8,55	–	–	–
34	38,21	30,62	26,14	-12,07	-31,59
\bar{C}	25,28	17,43	10,49	-15,36	-56,74
<i>DE</i>	10,11	12,78	10,42	11,83	32,63

Tabla 4.27: Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	% ΔC (%)
35	25,45	31,66	29,93	4,48	17,62
36	34,76	27,17	26,14	-8,62	-24,80
37	22,00	47,86	43,38	21,38	97,18
38	10,28	35,79	27,52	17,24	167,78
39	13,38	25,45	23,38	10,00	74,74
40	9,93	16,48	29,93	20,00	201,39
41	16,48	12,00	17,86	1,38	8,37
42	30,62	26,13	12,35	-18,28	-59,68
43	12,00	22,35	23,03	11,03	91,95
44	25,10	34,07	10,62	-14,48	-57,69
45	26,48	20,28	16,83	-9,66	-36,46
46	33,03	27,17	27,17	-5,86	-17,75
\bar{C}	21,63	27,20	24,01	2,39	38,55
<i>DE</i>	8,98	9,48	8,94	13,74	87,33

Tabla 4.28: Valores de concentración de apo-B en suero para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Los datos obtenidos de concentración de apo-B en la suero de los distintos grupos de conejos se representaron gráficamente, mostrando el resultado en las figuras 4.17, 4.18, 4.19 y 4.20.

4.6.1. Grupo control

Existe una gran variabilidad en los valores de concentración de apo-B obtenidos en este grupo experimental. Se observa, por ejemplo, un mantenimiento de dichos valores (5,10; 5,79 y 5,10 mg/ml; Conejo 1), un incremento inicial y posterior disminución (0,62; 15,10 y 3,03 mg/ml; Conejo 2), disminución mantenida (32,00; 13,38 y 12,35 mg/ml; Conejo 3), o incremento mantenido (27,52; 34,76 y 39,24 mg/ml; Conejo 4) desde el comienzo del período experimental (semana 0) hasta su finalización (semana 10). Nunca se alcanzan valores muy elevados. Un 40,00 % de los conejos incrementan sus niveles de apo-B a lo largo de las semanas del período experimental. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron de 39,93 mg/ml y 0,62 mg/ml, respectivamente. El porcentaje incremental fue de un $777,97 \pm 2087,82$ %.

4.6.2. Grupo colesterol

La tendencia general en este grupo de conejos es un incremento mantenido de los valores de apo-B desde la semana 0 hasta la semana 10. Se observan dos excepciones, los casos de dos conejos que disminuyen el valor de apo-B en la semana 5 para luego incrementarlo en la semana 10. Son los conejos 12 (8,55; 4,41 y 42,35 mg/ml) y 20 (23,72; 14,41 y 40,62 mg/ml). El 100,00 % de los conejos de este grupo incrementa los niveles de apo-B con un valor medio de $205,00 \pm 338,44$ %. La figura 4.18 muestra que los conejos 14 y 18 fueron los que obtuvieron valores más elevados. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 60,62 y 1,31 mg/ml, respectivamente.

4.6.3. Grupo Sideritis

El 100,00 % de los conejos de este grupo disminuyeron los niveles de apo-B. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo son 38,90 y 1,31 mg/ml, respectivamente. El porcentaje de disminución de la concentración de este parámetro fue de un $56,74 \pm 32,63$ %.

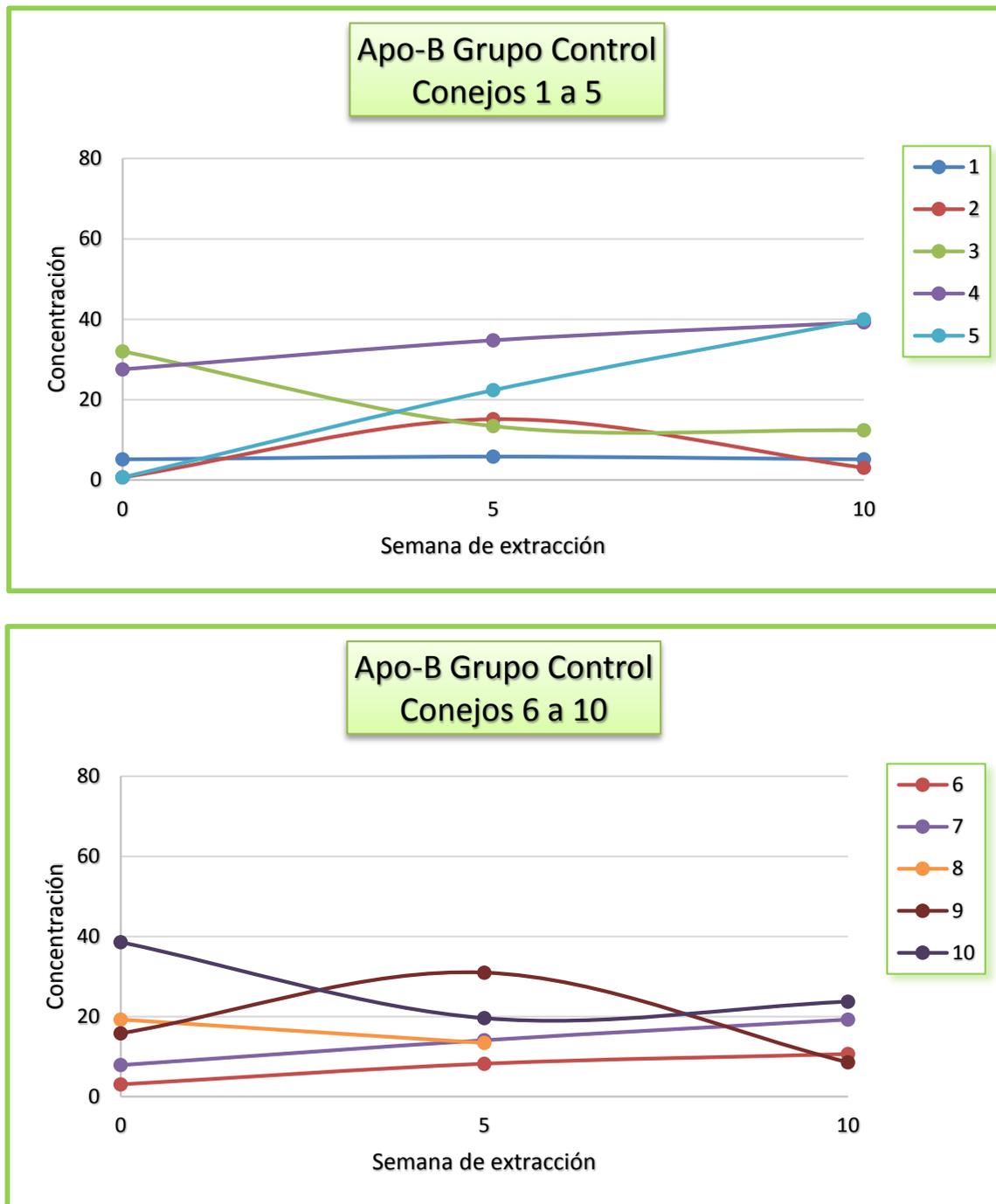


Figura 4.17: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo control.

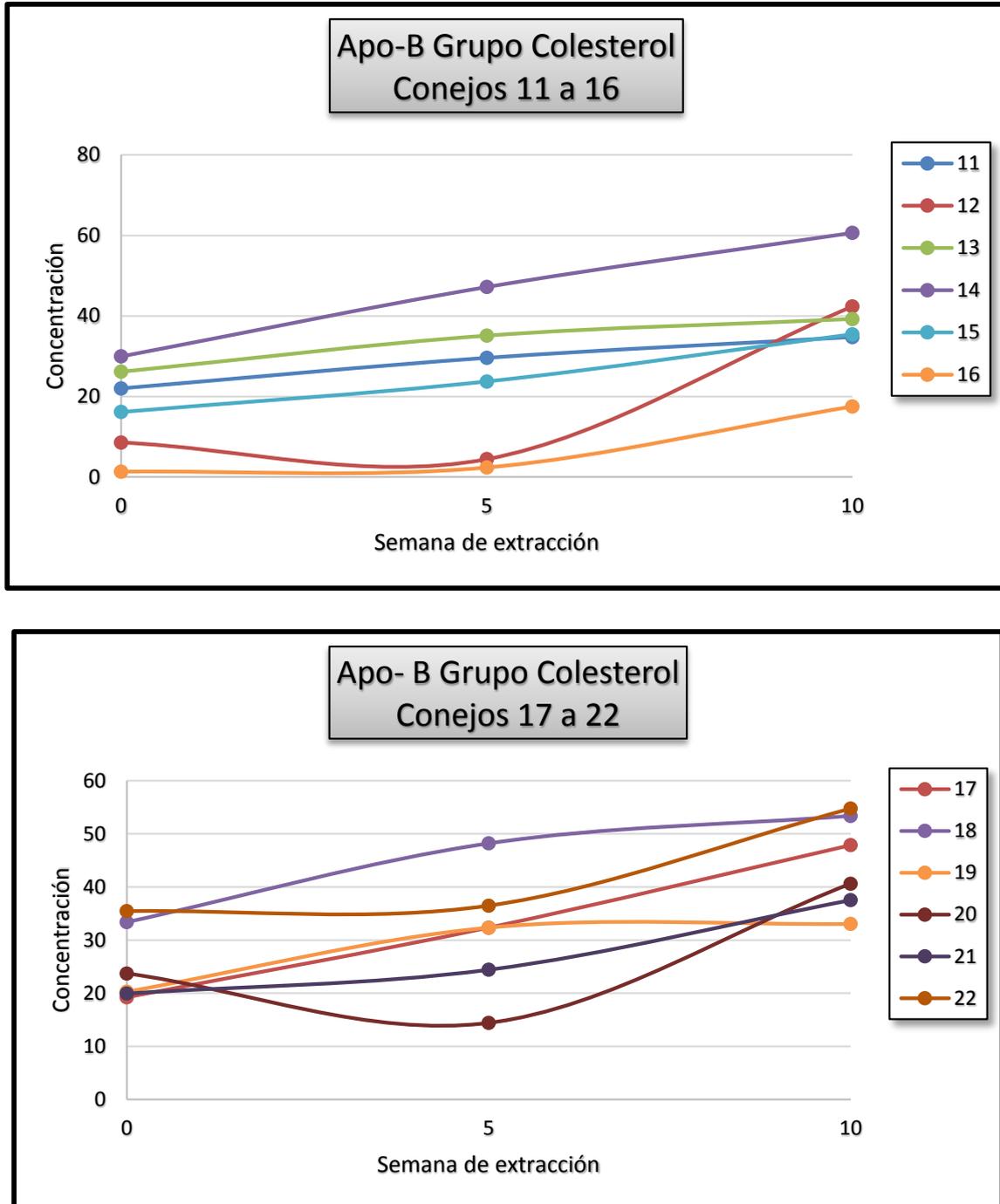


Figura 4.18: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo colesterol.

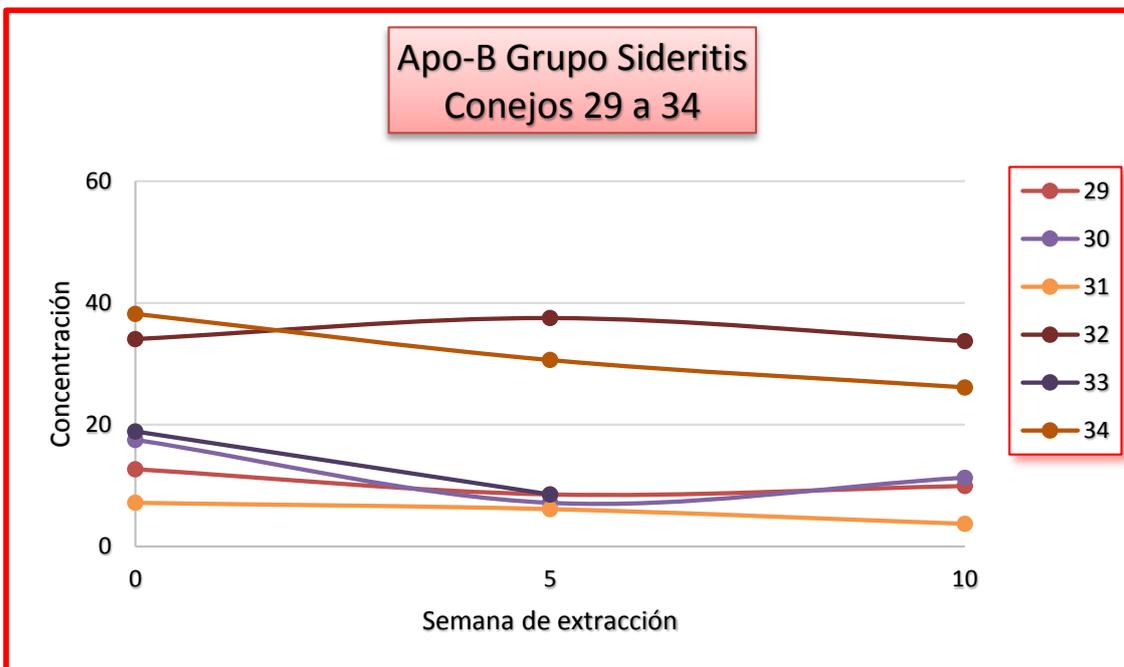
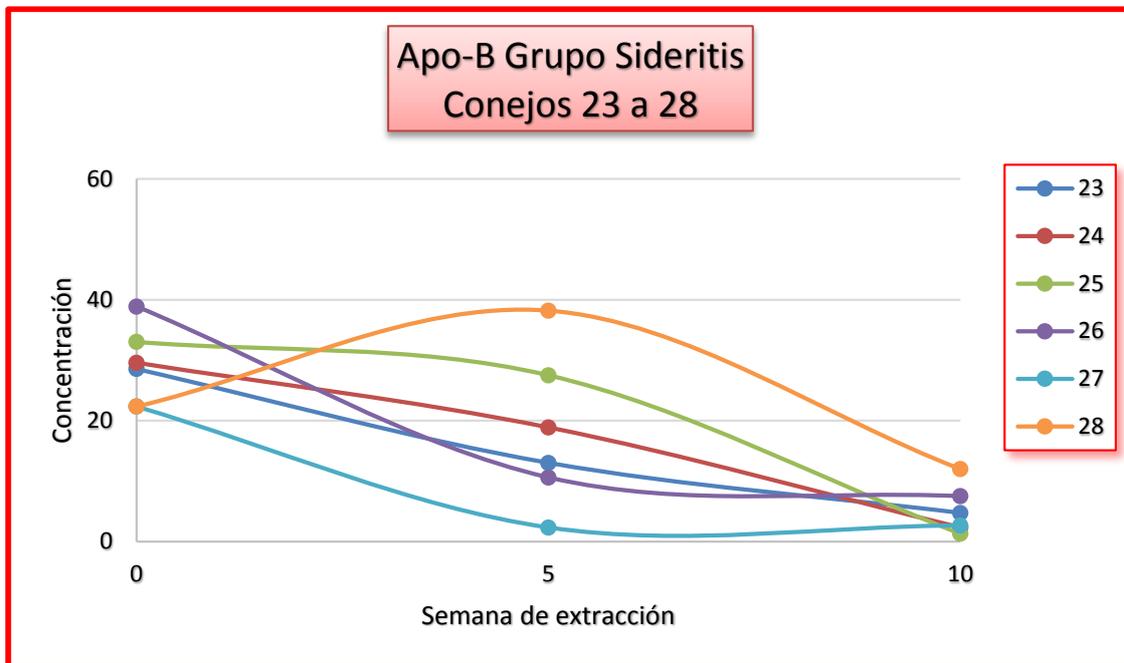


Figura 4.19: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo Sideritis.

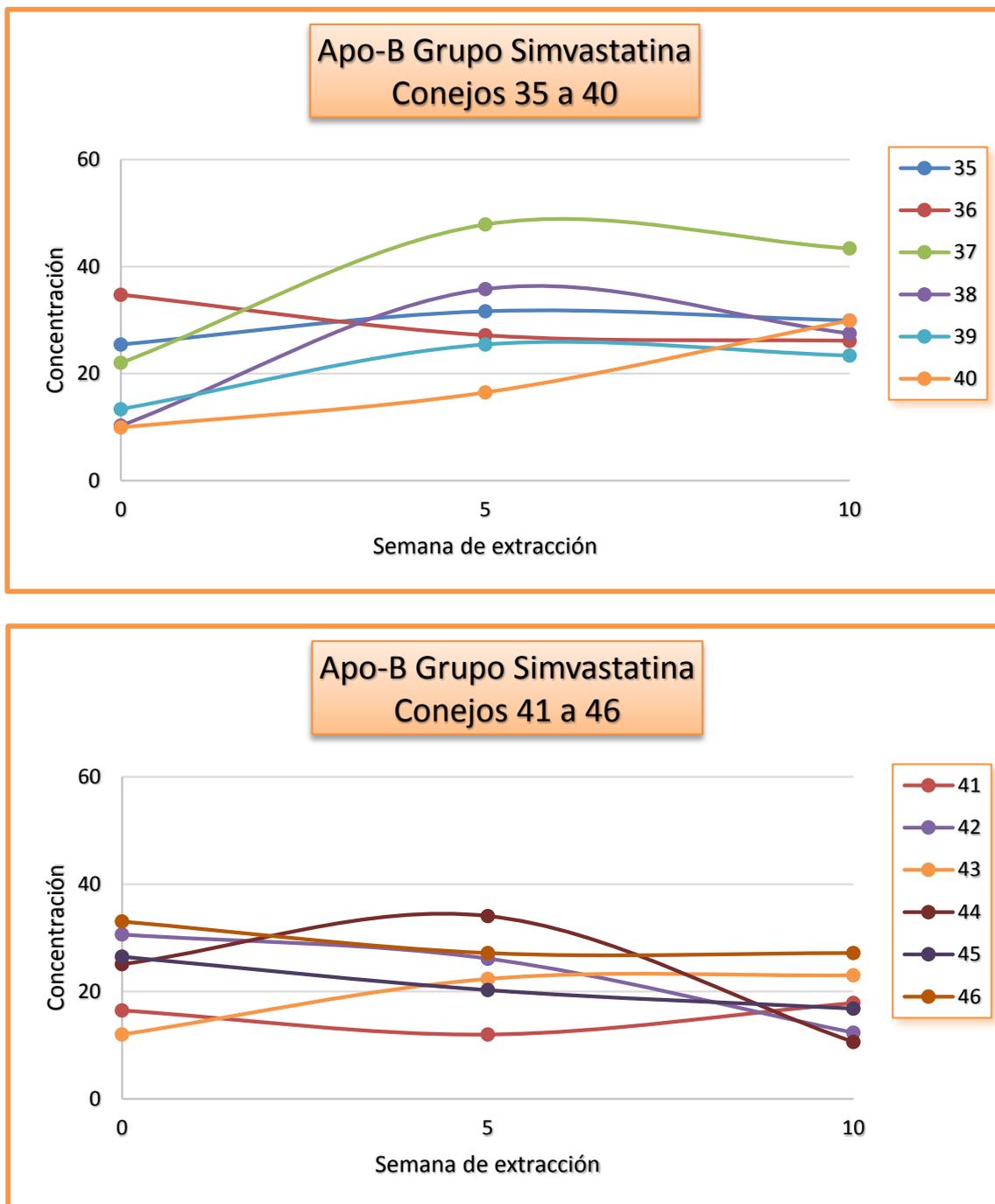


Figura 4.20: Representación gráfica de concentración obtenida en suero de apo-B frente a semana de extracción en el grupo simvastatina.

Los conejos 28 y 32 mostraron un incremento más acusado con respecto a los valores de apo-B, hecho que se halla reflejado en la figura 4.19.

4.6.4. Grupo simvastatina

En este grupo experimental los conejos 35, 37, 38, 39, 40, 41 y 43 incrementan los niveles de apo-B a lo largo del tiempo, mientras que el resto los mantienen o disminuyen. El conejo 37 fue el que mostró un mayor incremento de este parámetro (figura 4.20). Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron de 47,86 y 9,93 mg/ml, respectivamente. Los niveles de apo-B en este grupo se incrementaron en un $38,55 \pm 87,33$ %.

4.6.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los valores de concentración de apo-B en suero para los días de tratamiento mediante el test de Friedman mostró que las diferencias que existen entre los días de tratamiento no alcanzaron el nivel de significación ($p < 0,05$).

La aplicación del test de Kruskal—Wallis para la determinación de diferencias significativas ($p < 0,05$) de los valores de concentración de apo-B entre los distintos grupos de tratamiento dio resultados positivos. El grupo control mostró diferencias significativas con respecto a los grupos colesterol, Sideritis y simvastatina. Asimismo el grupo colesterol mostró diferencias significativas con respecto a Sideritis y simvastatina. Se encontraron también diferencias que alcanzaron el nivel de significación entre los grupos Sideritis y simvastatina.

4.7. Cálculo de las concentraciones de c-VLDL en suero

A partir de los valores de TG obtenidos anteriormente para cada conejo y reflejados en los cuadros 4.21, 4.22, 4.23 y 4.24 para cada uno de los grupos experimentales, se procedió al cálculo de las concentraciones de c-VLDL en los conejos pertenecientes a los distintos grupos. Para ello se utilizó la fórmula propuesta por (Satheesh y Pari, 2008) y descrita en el apartado de Material y Métodos, expresando los distintos parámetros en mg/ml. Los valores de ΔC y $\% \Delta C$ que tienen signo negativo indican una disminución, mientras que los que presentan signo positivo nos muestran un incremento en las concentraciones a los largo de las semanas 0, 5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	%ΔC (%)
1	52,02	14,02	19,08	-32,94	-63,32
2	12,02	14,26	14,26	2,24	18,59
3	21,44	9,67	10,26	-11,18	-52,14
4	20,02	9,79	8,50	-11,53	-57,58
5	14,02	11,91	14,38	0,35	2,52
6	12,26	17,91	14,61	2,35	19,19
7	17,67	13,91	12,38	-5,29	-29,96
8	18,14	12,49	-	-	-
9	13,79	12,73	18,73	4,94	35,84
10	16,49	7,32	9,08	-7,41	-44,94
$\bar{C} \pm D.E.$	19,79 ± 11,77	12,40 ± 2,97	13,48 ± 3,83	-6,50 ± 11,63	-19,09 ± 38,22

Tabla 4.29: Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	%ΔC (%)
11	31,32	17,20	19,20	-12,12	-38,69
12	17,55	12,38	16,26	-1,29	-7,37
13	18,61	8,14	10,73	-7,88	-42,35
14	10,26	12,85	12,85	2,59	25,23
15	10,14	8,49	10,73	0,59	5,80
16	13,67	10,14	16,14	2,47	18,07
17	50,38	9,79	17,20	-33,18	-65,86
18	12,49	7,91	13,44	0,94	7,53
19	23,91	7,32	8,73	-15,18	-63,48
20	35,08	6,38	10,38	-24,71	-70,42
21	17,55	11,44	10,73	-6,82	-38,87
22	31,20	12,02	18,02	-13,18	-42,23
$\bar{C} \pm D.E.$	22,68 ± 12,19	10,34 ± 3,03	13,70 ± 3,53	-8,98 ± 11,36	-26,05 ± 34,21

Tabla 4.30: Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

En los cuadros 4.29 , 4.30, 4.31, 4.32 se muestran las concentraciones de c-VLDL en mg/ml en los grupos control, colesterol, Sideritis y simvastatina.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	%ΔC (%)
23	18,85	10,49	21,20	2,35	12,49
24	21,32	9,79	12,38	-8,94	-41,94
25	17,20	10,38	12,38	-4,82	-28,04
26	29,20	10,85	13,32	-15,88	-54,39
27	16,49	8,97	13,55	-2,94	-17,83
28	10,49	20,38	28,49	18,00	171,52
29	17,20	11,44	12,14	-5,06	-29,41
30	25,44	9,67	11,32	-14,12	-55,50
31	34,14	16,02	13,67	-20,47	-59,96
32	23,79	6,26	9,08	-14,71	-61,82
33	10,61	10,61	—	—	—
34	12,38	10,26	23,08	10,71	86,50
$\bar{C} \pm D.E.$	17,76 ± 7,36	11,26 ± 3,62	15,51 ± 6,00	-5,08 ± 11,77	-7,13 ± 73,27

Tabla 4.31: Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	C ₀ (mg/ml)	C ₁ (mg/ml)	C ₂ (mg/ml)	ΔC (mg/ml)	%ΔC (%)
35	18,02	12,49	26,26	8,24	45,69
36	26,02	10,38	25,20	-0,82	-3,17
37	27,67	12,61	18,85	-8,82	-31,89
38	22,85	9,91	9,79	-13,06	-57,16
39	32,49	10,73	10,61	-21,88	-67,34
40	12,38	16,49	22,61	10,24	82,70
41	16,38	9,67	12,73	-3,65	-22,27
42	17,08	15,20	21,91	4,82	28,24
43	21,44	10,97	9,08	-12,35	-57,63
44	22,97	7,32	9,20	-13,77	-59,94
45	27,32	7,32	9,55	-17,77	-65,03
46	17,67	12,14	16,14	-1,53	-8,66
$\bar{C} \pm D.E.$	21,86 ± 5,81	11,27 ± 2,76	15,99 ± 6,68	-5,86 ± 10,38	-18,04 ± 48,96

Tabla 4.32: Valores de las concentraciones de c-VLDL para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Las representaciones gráficas correspondientes a las concentraciones de c-VLDL en los distintos grupos experimentales se exponen en las figuras 4.21, 4.22, 4.23 y 4.24 .

4.7.1. Grupo control

Los conejos pertenecientes a este grupo disminuyen o mantienen los niveles de c-VLDL durante el período experimental. Solamente el conejo 9 incrementa su concentración (13,79; 12,73 y 18,73 mg/ml, respectivamente). Un 60,00 % de los conejos disminuyó los niveles de c-VLDL. El conejo 1 es el que presenta un nivel inicial de c-VLDL más elevado que el resto de los animales (figura 4.21). Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 52,02 y 7,32 mg/ml, respectivamente. La tendencia general de este grupo es de disminución, que fue de un $19,09 \pm 38,22$ %.

4.7.2. Grupo colesterol

La mayor parte de los conejos disminuyen o mantienen los valores de c-VLDL a lo largo de tiempo. Dos conejos experimentan un incremento más marcado, el 14 y 16 (10,26; 12,85 y 12,85 mg/ml y 13,67; 10,14 y 16,14 mg/ml, respectivamente). El conejo 17 es el que presenta un valor inicial de c-VLDL más elevado (figura 4.22). Un 85,70 % de los conejos disminuyó los niveles de c-VLDL. El porcentaje de disminución fue de un $26,05 \pm 34,21$ %. Los valores máximo y mínimo fueron 50,38 y 6,38 mg/ml, respectivamente.

4.7.3. Grupo Sideritis

Todos los individuos disminuyeron los niveles de c-VLDL, a excepción de los conejos 23, 28 y 34 (18,85; 10,49 y 21,20 mg/ml; 10,49; 20,38 y 28,49 mg/ml; 12,38; 10,26 y 23,08 mg/ml, respectivamente). Un 75,00 % de los conejos disminuyeron la concentración de c-VLDL durante el período experimental, siendo el porcentaje de disminución del grupo de un $7,13 \pm 73,27$ %. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 34,14 y 6,26 mg/ml, respectivamente.

4.7.4. Grupo simvastatina

Sólo tres conejos incrementaron la concentración de c-VLDL a lo largo del tiempo. Fueron el 35, 40 y 42 (18,02; 12,49 y 26,26 mg/ml para el primero; 12,38; 16,49 y 22,61 mg/ml para el segundo, y 17,08; 15,20 y 21,91 mg/ml para el tercero). Un 75,00 % de los conejos

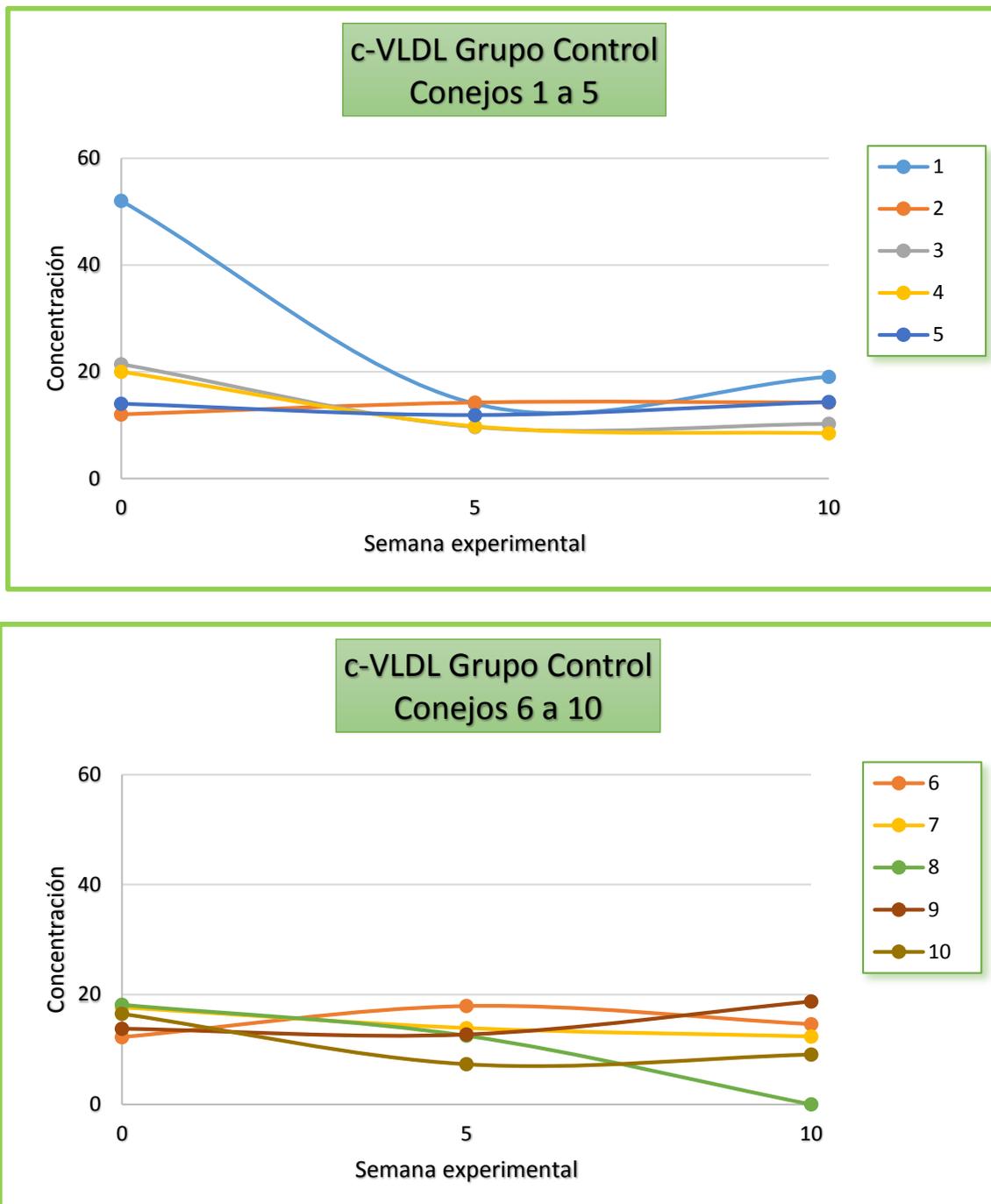


Figura 4.21: Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo control.

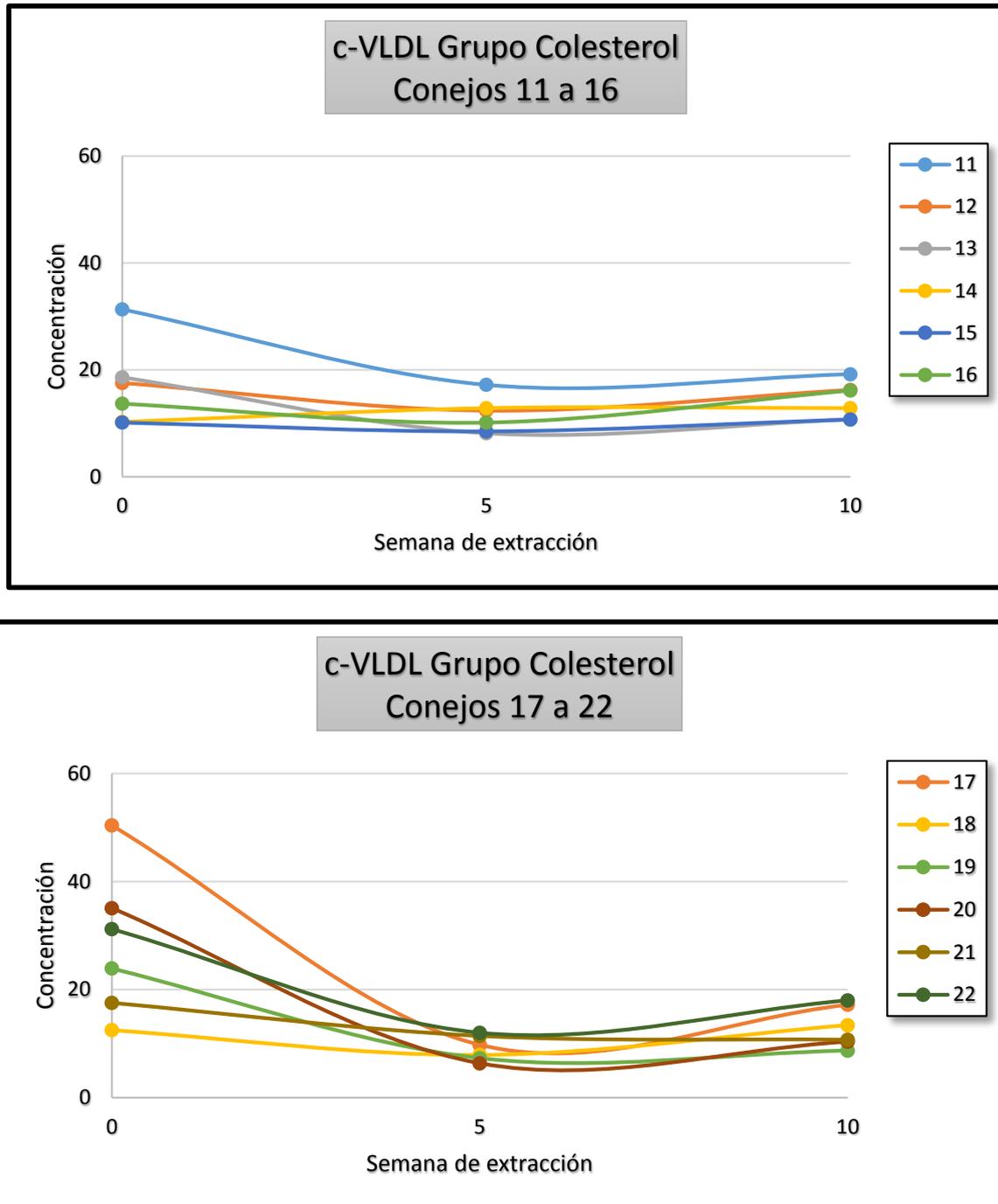
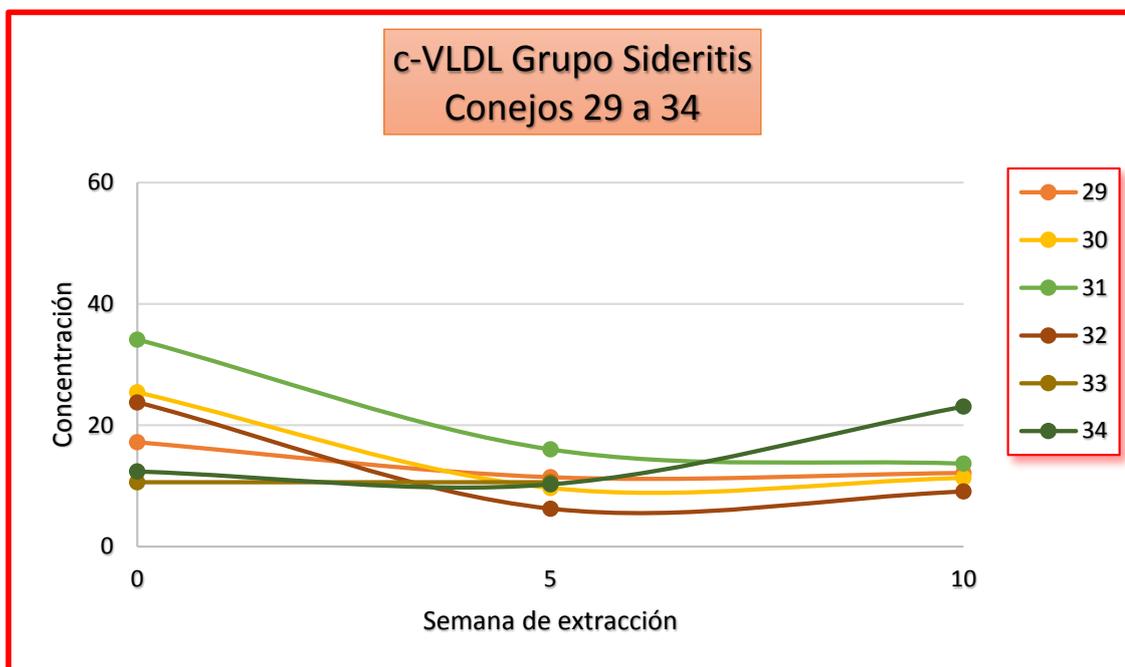
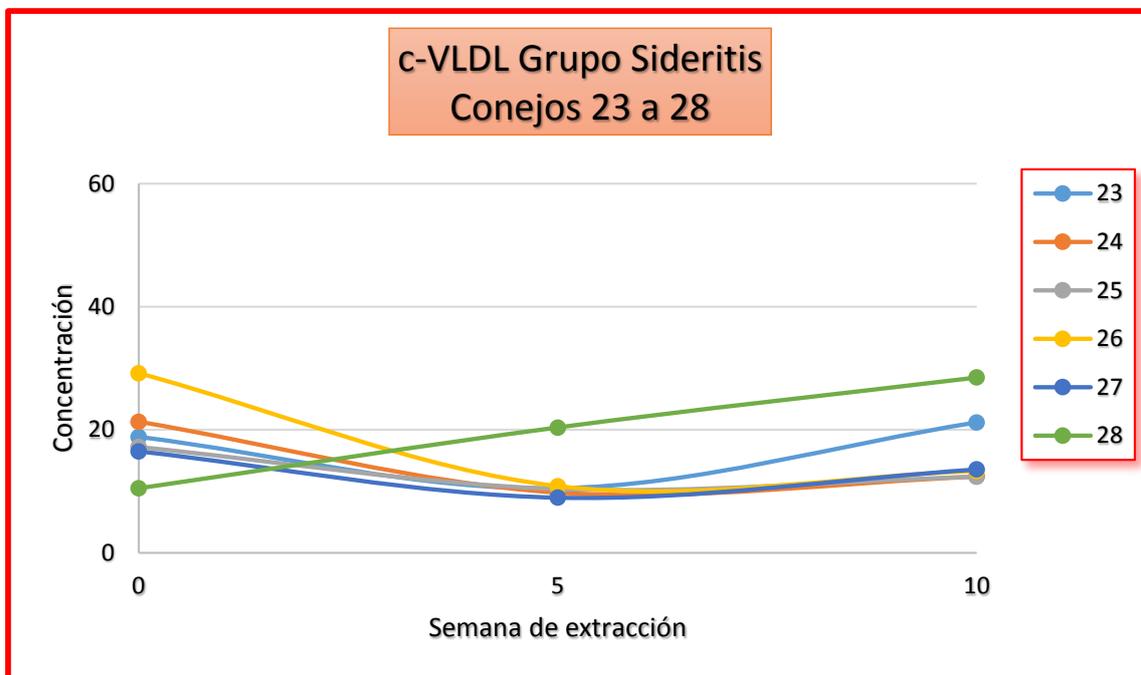


Figura 4.22: Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo colesterol.



v

Figura 4.23: Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo Sideritis.

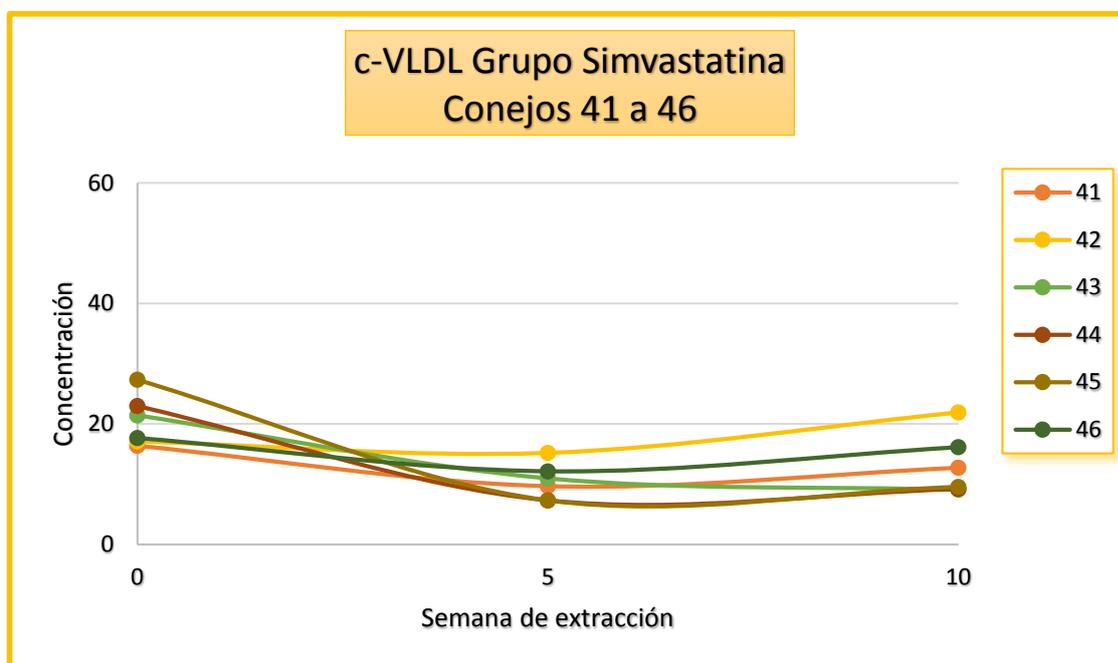
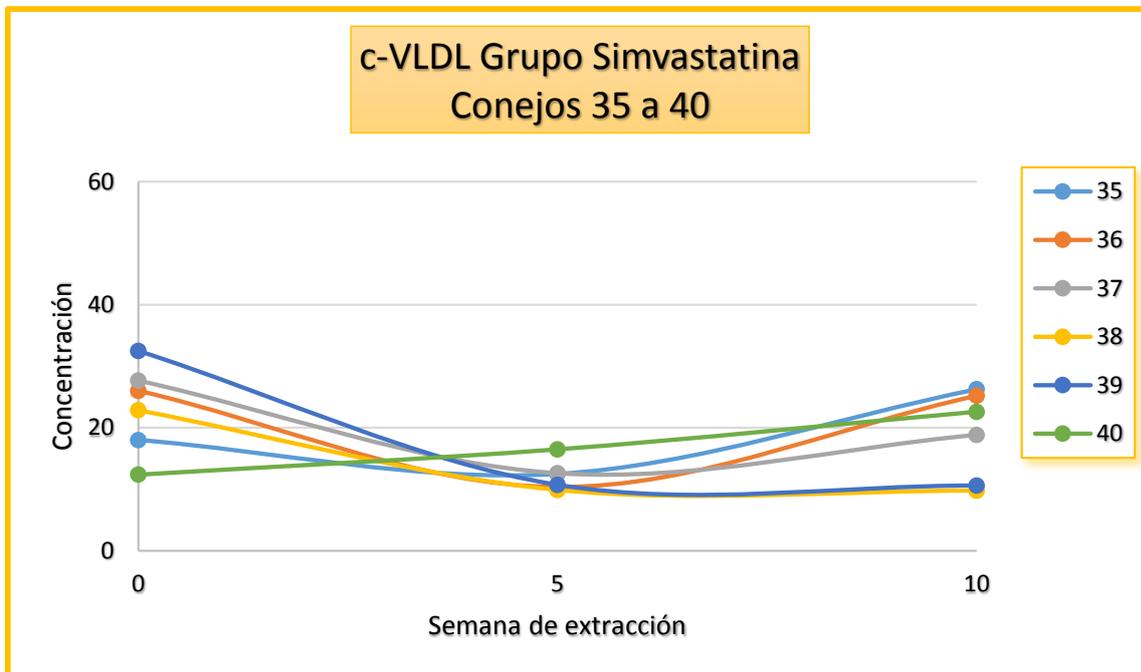


Figura 4.24: Representación gráfica de las concentraciones calculadas de c-VLDL para el grupo Simvastatina.

disminuyó los niveles de c-VLDL a lo largo del tiempo. El porcentaje de disminución fue de un $18,04 \pm 48,96$ %. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 32,49 y 7,32 mg/ml, respectivamente.

4.7.5. Análisis estadístico

La aplicación del test de Kruskal—Wallis a estos datos no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). Por otra parte, se hallaron diferencias significativas para los días de tratamiento (test de Friedman, $p < 0,05$). La posterior aplicación del test de Wilcoxon ($p < 0,05$) mostró que existían diferencias significativas ($p < 0,05$) para todas las semanas estudiadas.

4.8. Cálculo del IA

A partir de las concentraciones de c-VLDL calculadas anteriormente para cada una de las muestras (cuadro 4.29, 4.30, 4.31 y 4.32) y las concentraciones de c-HDL y c-LDL obtenidas experimentalmente (cuadros 4.13, 4.14, 4.15 y 4.16 para c-HDL y 4.17, 4.18, 4.19 y 4.20 para c-LDL) se procedió al cálculo del índice aterogénico según la fórmula indicada en el apartado de material y métodos (Hassan y Abdel-Wahhab, 2012) para cada conejo en cada grupo experimental.

Los cuadros 4.33, 4.34, 4.35 y 4.36 representan estos datos. Los valores de ΔC y de $\% \Delta C$ que representan un incremento se expresan con signo positivo. Al contrario, los valores que representan una disminución se expresan con signo negativo.

Conejo (n ^o)	IA ₀	IA ₁	IA ₂	ΔIA	%ΔIA (%)
1	4,17	2,14	2,93	-1,24	-29,83
2	1,91	2,65	2,97	1,06	55,67
3	2,15	1,91	1,78	-0,38	-17,50
4	2,10	1,96	1,85	-0,26	-12,25
5	2,54	2,61	3,08	0,55	21,55
6	1,81	4,12	2,53	0,72	39,90
7	1,96	2,91	3,06	1,10	55,92
8	1,86	3,13	—	—	—
9	2,08	3,23	1,38	-0,70	-33,60
10	2,82	2,50	2,61	-0,22	-7,64
<i>IA ± D.E.</i>	2,34 ± 0,72	2,72 ± 0,67	2,46 ± 0,64	0,07 ± 0,82	8,02 ± 35,77

Tabla 4.33: Valores de IA obtenidos para el grupo control en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (n ^o)	IA ₀	IA ₁	IA ₂	ΔIA	%ΔIA (%)
11	2,63	4,59	4,27	1,64	62,30
12	1,99	5,45	3,75	1,76	88,72
13	2,45	8,64	6,16	3,71	151,06
14	1,67	5,55	5,72	4,05	243,32
15	4,86	9,30	5,36	0,50	10,39
16	1,77	6,51	4,98	3,21	181,54
17	3,67	7,51	6,50	2,83	76,99
18	3,29	6,04	5,18	1,89	57,32
19	2,31	11,87	11,29	8,98	387,96
20	3,91	13,67	5,37	1,45	37,18
21	9,94	6,70	5,55	-4,39	-44,14
22	1,99	9,77	7,63	5,64	283,55
<i>IA ± D.E.</i>	3,37 ± 2,28	7,97 ± 2,77	5,98 ± 1,95	2,61 ± 3,17	128,17 ± 125,64

Tabla 4.34: Valores de IA obtenidos para el grupo colesterol en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (nº)	IA ₀	IA ₁	IA ₂	ΔIA	%ΔIA (%)
23	3,03	4,23	3,70	0,68	22,29
24	2,10	4,25	2,98	0,88	41,61
25	2,04	4,01	3,09	1,06	51,79
26	2,56	5,18	3,11	0,55	21,62
27	2,29	2,86	2,50	0,21	9,32
28	2,18	2,28	1,88	-0,30	-13,59
29	1,71	3,45	2,45	0,74	43,31
30	2,59	3,05	3,46	0,87	33,57
31	3,36	8,61	3,96	0,59	17,67
32	3,38	5,41	5,76	2,38	70,37
33	1,55	1,91	–	–	–
34	5,75	2,17	1,83	-3,92	-68,14
<i>IA ± D.E.</i>	2,71 ± 1,13	3,95 ± 1,86	3,16 ± 1,10	0,34 ± 1,56	20,89 ± 37,09

Tabla 4.35: Valores de IA obtenidos para el grupo Sideritis en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Conejo (nº)	IA ₀	IA ₁	IA ₂	ΔIA	%ΔIA (%)
35	3,23	4,21	4,45	1,22	37,75
36	2,25	2,77	2,59	0,35	15,57
37	2,51	2,20	1,97	-0,53	-21,19
38	2,60	3,19	3,10	0,50	19,37
39	2,91	3,86	2,29	-0,62	-21,25
40	1,98	2,01	1,63	-0,35	-17,58
41	1,90	2,97	2,04	0,15	7,64
42	2,45	4,75	2,24	-0,21	-8,57
43	1,91	3,72	4,12	2,22	116,36
44	2,39	3,55	3,55	1,16	48,68
45	2,84	5,05	2,97	0,12	4,34
46	2,30	2,28	2,19	-0,10	-4,53
<i>IA ± D.E.</i>	2,44 ± 0,41	3,38 ± 0,99	2,76 ± 0,89	0,33 ± 0,84	14,72 ± 39,00

Tabla 4.36: Valores de IA obtenidos para el grupo simvastatina en las semanas 0,5 y 10 del período experimental.

Las representaciones gráficas correspondientes a los valores de índice aterogénico frente a semana del período experimental se representan en las figuras 4.25, 4.26, 4.27 y 4.28 .

4.8.1. Grupo control

Se produce un incremento del IA en los conejos 2, 5, 6 y 7. El resto de conejos disminuyen este nivel desde el comienzo hasta el final del período experimental. Un 50,00 % de los animales disminuyeron los valores de éste parámetro. El porcentaje de incremento global en este grupo fue de un $8,02 \pm 35,77\%$. Los valores máximo y mínimo alcanzados en este grupo fueron 4,17 y 1,38 mg/ml, respectivamente.

4.8.2. Grupo colesterol

Hay un incremento del IA en todos los conejos, a excepción del 21, en el que se observa una disminución de este parámetro en un 44,14 %. Los valores máximo y mínimo encontrados fueron 13,67 y 1,67 mg/ml, respectivamente. El porcentaje de incremento global en este grupo fue de un $128,17 \pm 125,64\%$.

4.8.3. Grupo Sideritis

Se observa una disminución del IA en los conejos 28 y 34, que alcanzaron los valores 2,18; 2,28; 1,88 y 5,75; 2,17; 1,83, respectivamente, en las semanas 0, 5 y 10 del período experimental. Un 16,6 % de los individuos disminuyó el IA, siendo el conejo 31 el que alcanzó valores más elevados, como se aprecia en la figura 4.27. Los valores máximo y mínimo encontrados fueron 8,61 y 1,55. La tendencia general en este grupo fue de un incremento en el valor de éste parámetro, de un $20,89 \pm 37,09\%$.

4.8.4. Grupo simvastatina

Apreciamos una disminución del índice aterogénico en los conejos 37, 39, 40, 42 y 46. Un 41,66 % de los conejos disminuyeron el valor del IA. Los valores máximo y mínimo alcanzados fueron 5,05 y 1,63, respectivamente. El porcentaje de incremento fue de un $14,72 \pm 39,00\%$.

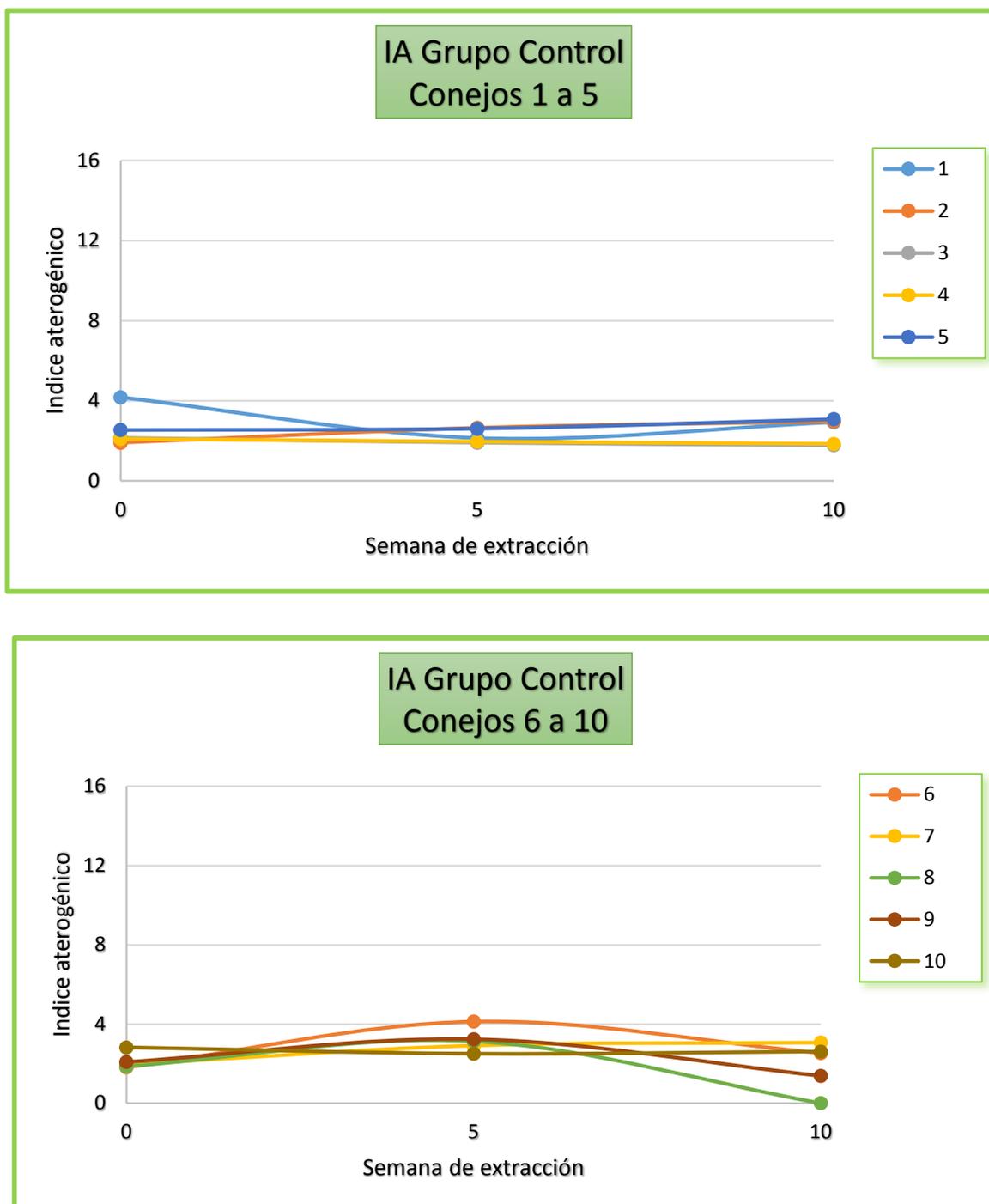


Figura 4.25: Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo control.

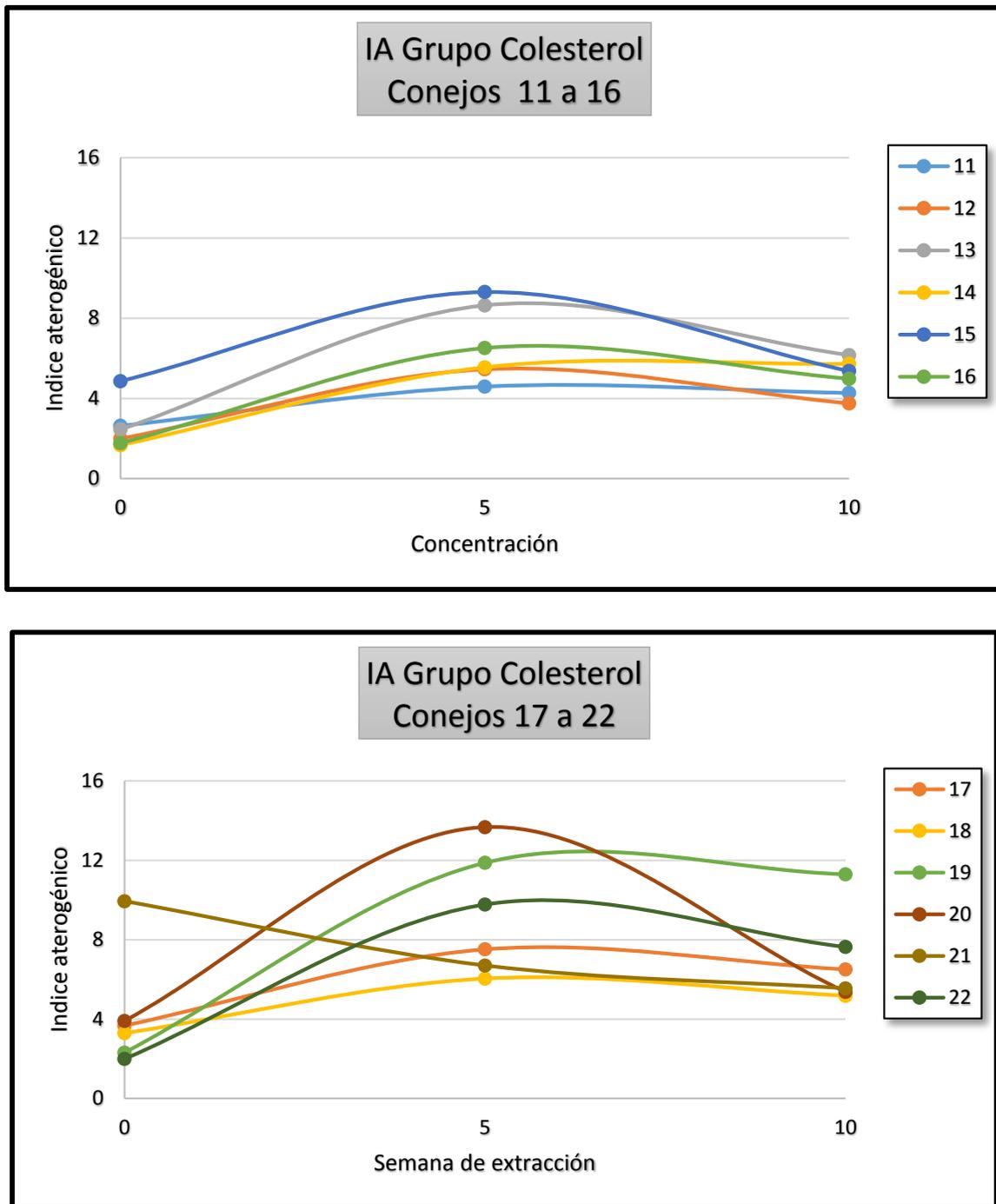


Figura 4.26: Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo colesterol.

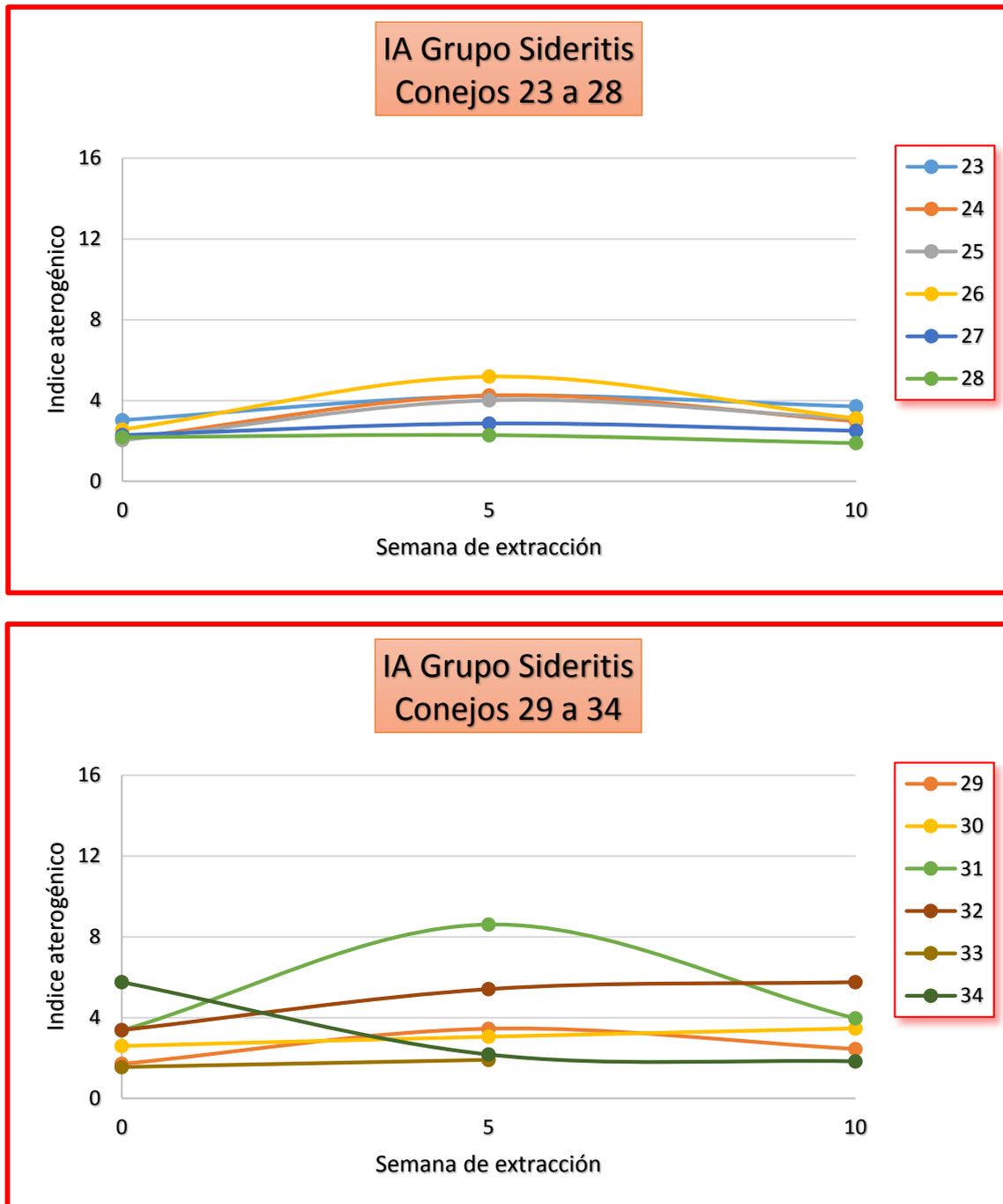


Figura 4.27: Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo Sideritis.

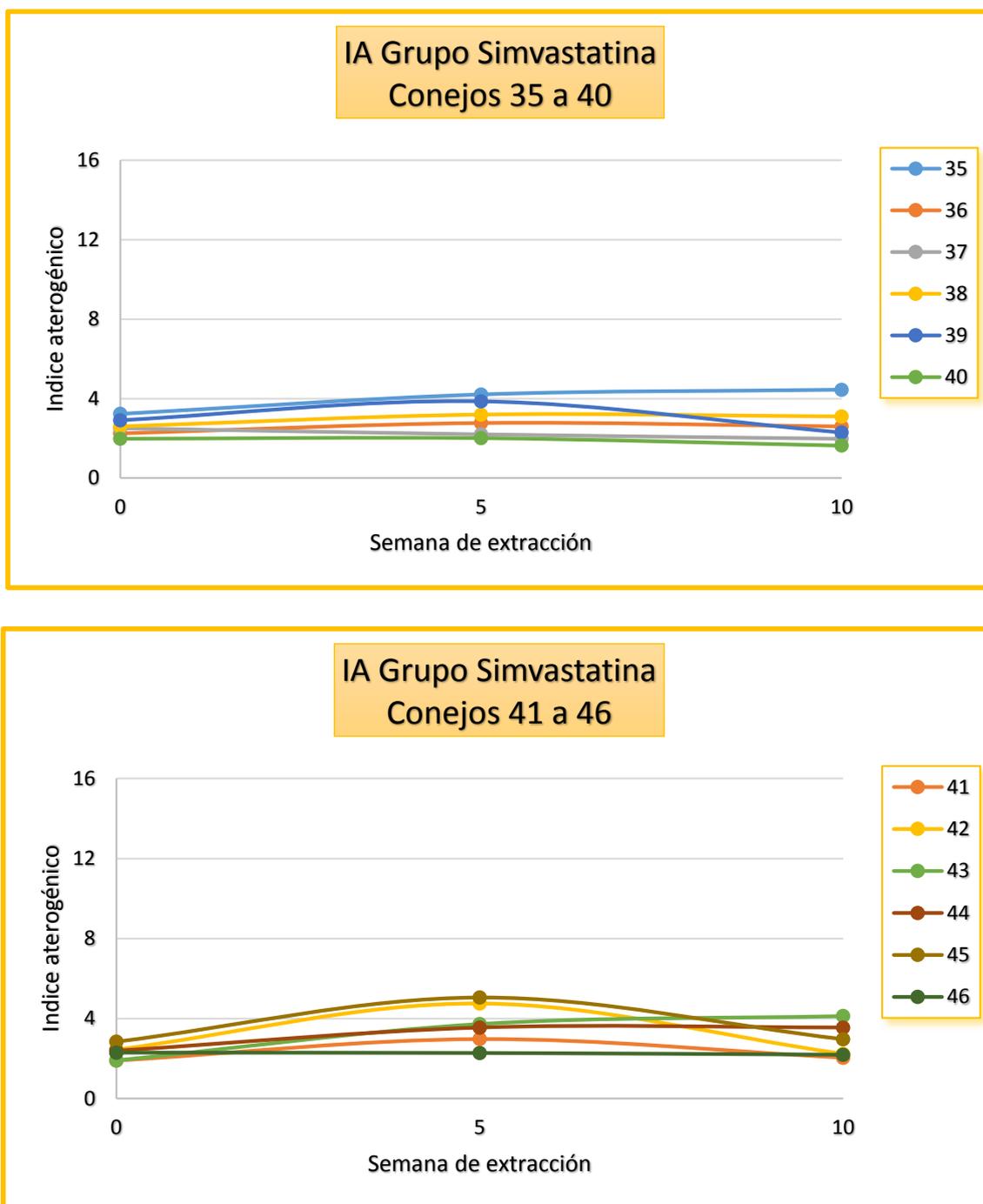


Figura 4.28: Representación gráfica de los valores del IA calculados para el grupo simvastatina.

4.8.5. Análisis estadístico

El test de Kruskal–Wallis determinó que había diferencias significativas ($p < 0,05$) en el IA para los distintos tratamientos del estudio. Las diferencias estaban entre el grupo control y los grupos colesterol y Sideritis y entre el grupo colesterol y los grupos Sideritis y simvastatina (test de Wilcoxon $p < 0,05$). Por otra parte, el test de Friedman indicó que había diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las distintas semanas de tratamiento. El test de Mann–Whitney permitió identificar que las diferencias estaban entre todos los grupos de semanas estudiados ($p < 0,05$).

En el cuadro 4.37 se resumen los valores medios, así como las desviaciones estándar iniciales y finales obtenidas de los parámetros principales estudiados para todos los grupos experimentales.

4.9. Discusión de los resultados

La administración de una dieta hipercolesterolémica está asociada normalmente a un incremento de peso corporal. Por el contrario, Naruse et al. (1994) observó entre los resultados proporcionados por sus estudios que el grupo de conejos a los que había administrado una dieta hipercolesterolémica habían incrementado en menor medida su peso que aquellos pertenecientes al grupo control, a los que no se había adicionado colesterol a su dieta (incrementos de $1,25 \pm 147$ kg y 868 ± 82 kg, respectivamente, en la semana 12 de tratamiento). En nuestro estudio se observa que aunque no existen diferencias significativas entre los pesos alcanzados por los distintos grupos experimentales a lo largo de las semanas 0, 5 y 10 de tratamiento, el grupo colesterol fue el de mayor incremento de peso en porcentaje, con un $78,58 \pm 19,63$ %. En otras ocasiones estas diferencias de peso entre los distintos grupos no son apreciables. Por ejemplo, Cheong et al. (2010) estudió el efecto de la administración de la planta *Spirulina platensis* sobre varios grupos de conejos hipercolesterolémicos durante 8 semanas, no existiendo apenas diferencias de peso entre los conejos tratados con la planta y los no tratados. En este estudio se observa que los conejos pertenecientes al grupo Sideritis, al que se administró la planta, presentan un incremento de peso similar al alcanzado por los conejos a los que se administró simvastatina. El incremento alcanzado en el grupo Sideritis fue de $1,43 \pm 0,24$ kg, siendo la media porcentual de incremento de peso de un $68,33 \pm 16,08$ %. El grupo control

Parámetro	Grupo CONTROL		Grupo COLESTEROL		Grupo SIDERITIS		Grupo SIMVASTATINA	
	Semana 0	Semana 10	Semana 0	Semana 10	Semana 0	Semana 10	Semana 0	Semana 10
CT (mg/ml)	79,76 ± 21,67	58,69 ± 19,42	101,63 ± 65,00	565,11 ± 281,22	95,44 ± 43,37	442,14 ± 257,58	88,98 ± 22,64	418,56 ± 268,44
c-HDL (mg/ml)	25,41 ± 3,96	17,45 ± 3,73	22,78 ± 3,65	85,65 ± 47,94	24,53 ± 6,36	68,45 ± 53,91	26,43 ± 4,45	71,84 ± 51,89
c-LDL (mg/ml)	38,66 ± 7,29	33,46 ± 7,79	48,14 ± 28,08	213,98 ± 111,86	41,94 ± 12,40	168,33 ± 108,26	41,16 ± 4,19	152,83 ± 97,58
TG (mg/ml)	98,94 ± 58,84	67,37 ± 19,16	113,40 ± 60,96	68,50 ± 17,63	98,79 ± 36,79	77,55 ± 30,01	109,28 ± 29,06	79,97 ± 33,39
APO-B (mg/ml)	15,10 ± 13,87	17,98 ± 13,84	21,34 ± 9,75	41,43 ± 11,57	25,28 ± 10,11	10,49 ± 10,42	21,63 ± 8,98	24,01 ± 8,94
c-VLDL (mg/ml)	19,79 ± 11,77	13,48 ± 3,83	22,68 ± 12,19	13,70 ± 3,53	17,76 ± 7,36	15,51 ± 6,00	21,86 ± 5,81	15,99 ± 6,68
LA	2,34 ± 0,72	2,46 ± 0,64	3,05 ± 1,05	2,93 ± 0,91	2,71 ± 1,13	3,16 ± 1,10	2,44 ± 0,41	2,76 ± 0,89

Tabla 4.37: Resumen de las medias y desviaciones estándar iniciales y finales de los parámetros bioquímicos estudiados en los grupos control, colesterol, Sideritis y simvastatina.

fue el de menor incremento de peso en porcentaje, con un $61,69 \pm 9,31 \%$.

La administración de una dieta rica en grasas genera un incremento de los niveles de CT en suero, generando depósitos de colesterol en la pared arterial y desembocando en una aterosclerosis (Anwar et al., 2007). En nuestro estudio se incrementaron los niveles de CT en aquellos grupos experimentales a los que se le había administrado una dieta enriquecida en colesterol (2%), no ejerciendo por supuesto esta dieta ninguna acción protectora cardiovascular. Así pues, los valores de CT alcanzados por los grupos colesterol ($496,71 \pm 253,27 \%$), Sideritis y simvastatina ($437,87 \pm 366,89 \%$ y $361,80 \pm 270,44 \%$, respectivamente) fueron muy superiores a los obtenidos por el grupo control, encontrándose diferencias significativas en los resultados obtenidos entre este grupo y los tres primeros. Por otra parte, Patil et al. (2010) estudió el efecto de la administración de distintas dosis del extracto metanólico de *Celastrus paniculatus* (25, 45, 65 y 75 mg/kg) durante 6 semanas a ratas, observando un decrecimiento dosis-dependiente de los niveles de CT tras la administración de las distintas dosis del extracto, hasta los 65 mg/kg, dosis a partir de la cual se obtenían los mismos valores de colesterol, independientemente de que aumentara esta dosis. Nuestra planta en estudio obtuvo buenos resultados, ya que aunque incrementó los niveles de CT en mayor medida que el grupo control (éste experimentó una disminución de un 27,07%), este incremento fue similar al experimentado por el grupo simvastatina y menor que el obtenido en el grupo colesterol. Los valores de CT variaron a lo largo de todo el período experimental, encontrándose diferencias significativas en los niveles de CT obtenidos en las semanas 0, 5 y 10 y apreciando signos de disminución de los niveles de colesterol a consecuencia de la administración de los tratamientos a partir de la semana 5.

Se sabe que el incremento de los niveles de c-HDL supone un beneficio adicional para el organismo a la reducción de los niveles de c-LDL por las estatinas. Por lo tanto, este incremento se utiliza como estrategia adicional para reducir el riesgo cardiovascular de un individuo (Badimón et al., 2010). La administración de la planta *Ilex paraguarensis* a ratas hipercolesterolémicas dió como resultado una disminución de los niveles de c-HDL a los grupos a los que se había administrado una dieta rica en colesterol, alcanzando aproximadamente la mitad de los niveles que en los grupos que no estaban alimentados con una dieta rica en colesterol (Bravo et al., 2014). Por contra, en nuestro estudio la administración de la planta *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* a los conejos generó un incremento significativo

de los niveles de c-HDL ($225,37 \pm 316,94$ mg/ml), al igual que el grupo simvastatina ($167,20 \pm 188,25$ mg/ml), pero inferior al grupo colesterol, que incrementó sus valores en $266,24 \pm 182,68$ mg/ml. El grupo control experimentó una disminución significativa de $30,51 \pm 27,53$ mg/ml, con respecto a los demás grupos experimentales. Las variaciones encontradas los niveles de c-HDL en las semanas 0, 5 y 10 no alcanzaron el nivel de significación. Esto podría deberse a la variabilidad existente entre las distintas concentraciones de c-HDL. Hay otros autores que afirmaron que los niveles elevados de c-HDL en la población japonesa aumentan la predisposición a enfermedades como el infarto agudo de miocardio (Cui et al., 2012).

EL c-LDL es el mayor transportador de colesterol en el plasma, constituyendo su forma oxidada (ox-LDL) un importante papel en el desarrollo de la aterosclerosis. La administración de la planta *Hypericum lysimachoides* a conejos hipercolesterolémicos disminuyó de forma significativa los niveles de c-LDL, ejerciendo una acción protectora cardiovascular (Hakimoglu et al., 2007). En nuestro estudio, los conejos a los que se les había administrado *Sideritis hyssopifolia*, *L. subsp. hyssopifolia* y simvastatina, además de colesterol, no incrementaron de forma excesiva los valores de c-LDL ($306,39 \pm 259,39$ mg/ml y $267,95 \pm 237,97$ mg/ml) en comparación con el grupo colesterol ($369,57 \pm 195,17$ mg/ml), encontrándose entre los dos grupos primeros y el tercero diferencias significativas. También se encontraron diferencias que alcanzaron el nivel de significación entre los grupos Sideritis, simvastatina y colesterol con respecto al grupo control, que experimentó una disminución en estos niveles de $13,04 \pm 20,92$ mg/ml. Nuestra planta presenta, por tanto, un perfil protector frente a enfermedades cardiovasculares. Lu et al. (2012) encontraron que la administración de 5 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg de alicina generó una disminución de los niveles de c-LDL de un 57,92 %, 56,83 % y 43,72 %, en los conejos hipercolesterolémicos con respecto a los controles. La administración de nuestra planta a distintas dosis puede ser un factor a tener en cuenta en futuras investigaciones.

Se sabe que una concentración muy elevada de TG postprandiales es causa de enfermedades como el infarto de miocardio y la enfermedad cardíaca isquémica y muerte (Nordestgaard et al., 2007). Un estudio realizado por Shaguir et al. (2012) mostró el efecto hipolipemiante de la planta *Carum carvi* tras su administración a ratas hiperlipidémicas. Se produjo un incremento significativo de los niveles de TG en aquellas ratas que habían ingerido una dieta rica en colesterol, en comparación con el grupo control. La administración del extracto acuoso de *Carum Carvi* descendió de forma significativa los niveles de TG en comparación con el grupo

colesterol. En todos los grupos experimentales de nuestro estudio se produjo un descenso de los niveles de TG, a excepción del grupo colesterol, que mostró una disminución en el período comprendido entre las semanas 0 a 5, mientras que experimentó un incremento de las semanas 5 a 10. Esto pudo deberse a que en la semana 5 se produjo un acúmulo excesivo de lípidos, mostrando a partir de entonces signos de hipertrigliceridemia. Los grupos Sideritis y simvastatina disminuyeron las concentraciones de triglicéridos en la misma proporción. En este caso las variaciones entre las concentraciones de TG de los distintos grupos experimentales no alcanzaron en ningún momento el nivel de significación, siendo las variaciones entre las distintas semanas significativas.

Actualmente se considera que la apo-B es un factor predictivo de enfermedad cardiovascular mucho más potente que los parámetros lipídicos convencionales (entre ellos, la c-LDL), ya que nos proporciona mucha más información sobre el número de partículas aterogénicas existentes (Díaz et al., 2005). En nuestro estudio, el grupo al que se le administró la planta *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* es el que presentó un mejor perfil de protección frente a enfermedades cardiovasculares respecto a la evaluación de apo-B. Es el único grupo que obtuvo una tendencia global de disminución de los niveles de apo-B, en un $56,74 \pm 32,63$ %. Ningún conejo incrementó los valores de apo-B en este grupo. El resto de los grupos sí incrementaron los niveles de apo-B; el grupo control en un 40,00 %, el grupo simvastatina en un 50,00 % y el grupo colesterol en un 100,00 %. Existen casos en los que la administración de una planta no genera un perfil tan claro con respecto a la apo-B. Por ejemplo, la administración de un alimento rico en esteroides vegetales no produjo apenas variaciones en los niveles de apo-B en un grupo de población japonesa con respecto a los individuos que no habían ingerido ese alimento ($0,98 \pm 0,18$ g/l y $1,04 \pm 0,19$ g/l, respectivamente) (Ntanios et al., 2002).

En todos los grupos de tratamiento de nuestro estudio hay una mayoría de conejos que disminuyen la concentración de c-VLDL a lo largo del tiempo. El grupo colesterol es el que presenta un mayor porcentaje de conejos que disminuye la concentración de c-VLDL (85,7 %), siendo esta variación mucho más acusada en éste grupo que en el resto de los grupos de tratamiento (60,00 % en el grupo control; 75,00 % en los grupos Sideritis y simvastatina). De la misma forma, los conejos pertenecientes al grupo colesterol disminuyen en mayor proporción la concentración de c-VLDL que el resto de los grupos: el grupo control en un $19,09 \pm 38,21$ %,

el grupo colesterol en un $26,618 \pm 34,21\%$, y los grupos Sideritis y simvastatina en un $7,13 \pm 73,27$ y un $18,04 \pm 48,96\%$, respectivamente. Esto puede deberse a que los conejos pertenecientes al grupo colesterol emplean una mayor proporción de c-VLDL para la formación de c-LDL, siendo la concentración de este último parámetro mucho más elevada que en el resto de los grupos. Un estudio realizado por (Satheesh y Pari, 2008) mostró que la administración de la planta *Pterocarpus marsupium* a ratas diabéticas hiperlipidémicas llevó a una disminución de los niveles de c-VLDL, además de c-LDL y CT.

Los incrementos de IA encontrados en los distintos grupos de tratamiento de nuestro estudio fueron $0,07 \pm 0,82$ mg/ml, $128,17 \pm 125,64$ mg/ml, $0,34 \pm 1,56$ mg/ml y $0,33 \pm 0,84$ mg/ml en los grupos control, colesterol, Sideritis y simvastatina, existiendo diferencias significativas entre estos valores. Estas diferencias se encontraron entre el grupo colesterol y todos los demás y entre el grupo control y el grupo de Sideritis. La fórmula utilizada para el cálculo del IA fue la propuesta por (Hassan y Abdel-Wahhab, 2012), expresada en función de los valores de c-VLDL, c-LDL y c-HDL. Según Movahedian et al. (2009), la administración del extracto etanólico de las partes aéreas de la planta *Peucedanum pastinacifolium* Boiss. y Hausskn. a ratas hipercolesterolémicas generó una disminución de los valores de IA en estos animales, no existiendo tampoco diferencias significativas entre los niveles de este parámetro entre los distintos grupos de tratamiento. En este caso la fórmula utilizada para el cálculo del índice aterogénico se encontraba en función de las variables CT y c-HDL.

Esta evaluación experimental en conejos muestra diferencias significativas en cuanto a los resultados obtenidos de los distintos parámetros medidos en los grupos control y colesterol, a excepción de c-VLDL y TG. El primer grupo, al que se le había administrado una dieta estándar, apenas incrementa los niveles finales de CT, c-LDL, c-VLDL, TG, apo-B e IA. Genera un incremento, eso sí, de los niveles de c-HDL (acción protectora) y de peso corporal. Por otra parte, la adición de un 2,00 % de colesterol en la dieta de los conejos incluidos dentro del grupo colesterol, produjo grandes incrementos relativos en todos los parámetros estudiados, no ejerciendo esta dieta, por supuesto, ninguna acción protectora cardiovascular. El grupo control también mostró diferencias significativas comparándolo con los grupos Sideritis y simvastatina en los niveles de todos los parámetros bioquímicos, a excepción de c-VLDL y TG. Las diferencias encontradas entre los valores alcanzados por el grupo colesterol y los grupos Sideritis y simvastatina fueron significativas para todos los parámetros bioquímicos a excepción

de CT, c-VLDL y TG. Estos resultados se deben a que aunque el efecto protector de los grupos Sideritis y simvastatina es elevado, el enriquecimiento con colesterol en la dieta en éstos dos últimos grupos no permitió el mantenimiento de los niveles sanguíneos de forma similar al grupo control, pero sí disminuirlos en comparación con el grupo colesterol. No hubo diferencias significativas en los niveles de colesterol total de los grupos colesterol, Sideritis y simvastatina, probablemente debido a que a estos grupos se les administró la misma proporción de colesterol en la dieta.

La administración de *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* proporcionó buenos resultados, ya que su administración a los conejos generó a dosis de 1,18g/kg/día efectos similares a los obtenidos por simvastatina a dosis de 1,2 mg/kg/día, no existiendo diferencias significativas en los resultados obtenidos para los distintos parámetros bioquímicos entre ambos grupos de tratamiento. Todos los resultados expuestos anteriormente nos muestran que *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia* es una planta con gran potencial antiaterogénico e hipocolesterolemiantes, ya que reúne las condiciones necesarias para obtener un buen perfil protector frente a enfermedades cardiovasculares, obteniendo valores sanguíneos muy similares a los que proporciona simvastatina: disminuye los niveles de CT, c-LDL, TG, apo-B y c-VLDL circulantes, además de incrementar los valores de c-HDL. Estos efectos son más notorios a partir de la semana 5 de tratamiento con la planta, por lo que sería necesario realizar nuevos estudios más prolongados en el tiempo para conocer los efectos de la administración de esta planta a largo plazo.

Distintos parámetros pueden haber influido en los resultados de nuestro estudio. Uno de ellos es la dosis administrada de *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*, la forma de administración de ésta y el tiempo de dicha administración (duración del estudio). La modificación de cualquiera de estas variables o las tres a la vez podían haber producido cambios en los efectos observados en los conejos. Existen estudios en los que se evalúa la administración de una planta variando las condiciones anteriores para ver cuál es el que genera efectos más favorables. Por ejemplo, Arroyo et al. (2007) evaluó el efecto de la administración de distintas dosis del extracto hidroalcohólico de *Zea Mays* (250, 500 y 1000 mg/kg) durante dos meses. La dosis de 1000 mg/kg no tuvo efecto sobre el nivel de CT, pero sí las dosis de 250 y 500 mg/kg, cuya administración generó niveles inferiores de CT que el grupo control. No se evidenciaron diferencias entre estos dos últimos grupos. Se apreció también una reducción de 7,3 mg/ml en

los niveles de TG para el grupo al que se le administró la dosis de 500 mg/kg comparado con el control. Alisi et al. (2008) administraron distintas dosis del extracto acuoso de la planta *Urtica dioica* (100,200 y 300 mg/kg/día) durante 41 días, obteniendo una disminución de los valores de CT, TG, c-HDL y c-LDL mucho más acusada en los animales a los que se administró la dosis mayor. El trabajo realizado por Marinou et al. (2010) sirve como modelo para ver los distintos efectos que se pueden conseguir tras la administración de diferentes extractos de una misma planta, en función de los componentes de cada uno. Este estudio se realizó durante un período de 3 meses, durante los cuales se administró un 1,00 % del extracto metanólico de la planta a un grupo y un 5,00 % del extracto ciclohexano a otro grupo de animales. Se obtuvieron unos niveles de c-HDL más altos y c-LDL más bajos en los animales a los que se les administraron los extractos con respecto al grupo control, obteniendo además el extracto metanólico un mayor efecto antioxidante y un mayor decrecimiento de las lesiones de la aorta. Hirunpanich et al. (2006) evaluó el efecto de la administración de varias dosis del extracto acuoso de *Hibiscus sabbdariffa* L. (200, 500 y 1000 mg/kg) a distintos tiempos. La dosis de 250 mg/kg no mostró ningún efecto hipocolesterolemiante. Sin embargo, la administración de las dosis de 500 y 1000 mg/kg mostraron una disminución del colesterol sérico de 15,00 y 20,00 %, respectivamente, a las 4 semanas, y de un 22,00 y 26,00 %, respectivamente, a las 6 semanas, además de una disminución en los niveles de triglicéridos séricos de 13,00 y 11,00 %, respectivamente, a las 4 semanas, y de 33,00 y 28,00 %, respectivamente, a las 6 semanas, siendo mayores estas disminuciones que en los animales no tratados.

En otros trabajos se valoran, además del perfil lipídico del animal, otros parámetros como exámenes de tipo histológico de las arterias y los órganos extraídos, así como por ejemplo medición de la actividad antioxidante de la planta, que profundizan en el conocimiento que podamos tener del efecto de la administración de una planta. Sería interesante tener en cuenta estos aspectos para estudios posteriores con *Sideritis hyssopifolia*, L. subsp. *hyssopifolia*. Visavadiya et al. (2009) evaluaron la actividad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de *Sesamum indicum* mediante distintos tests «in vitro», basados en la capacidad captadora de radicales libres O₂·, OH· y NO·, o en la capacidad protectora de estructuras biológicas (c-LDL, tanto la fracción sérica como la mitocondrial). Los resultados muestran la actividad antioxidante del extracto etanólico, contribuyendo esta planta con su rol protector en la patogénesis de la aterosclerosis. Shukla et al. (2004) evaluaron el efecto antioxidante del extracto acuoso

de la corteza de *Ficus bengalensis* mediante la determinación de los niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutatión reducido (GSH), superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa (GSH-PX) y glutatión reductasa. En el grupo tratado se observa una disminución de la peroxidación lipídica, evidenciada por la caída de TBARS y aumento de GSH, además de un incremento significativo de enzimas antioxidantes: SOD, catalasa y GSH-PX. Ramirez-Tortosa et al. (1999) evaluaron el efecto de la administración del extracto etanólico obtenido de los rizomas de *Curcuma longa* en conejos hipercolesterolémicos. La medición del grado de oxidación de las moléculas de c-LDL por los métodos TBARS y de inducción de hidroperóxidos da como resultado el valor más bajo para el grupo al que se había administrado la dosis menor de la planta. Además la concentración de vitamina E en el plasma fue mayor también en el grupo al que se le había administrado una dosis menor. Marinou et al. (2010) analizó las lesiones histopatológicas producidas en la aorta de los conejos determinando el grosor de la capa íntima, acumulación de las células espumosas, infiltrados mononucleares, formación de capa fibrosa y nivel de lípidos. Las lesiones en miocardio se clasificaron de 0 a 3 y las lesiones hepáticas de 0 a 4 en función del edema intersticial, fibrosis e infiltrados de células espumosas.

Es importante además el conocimiento de los posibles reacciones adversas de nuestra planta en cuestión y el efecto que produce su administración en el hombre. Por ejemplo, Ozdemir et al. (2008) evaluó el efecto de la administración del extracto acuoso de *Origanum Onites* en el hombre, por su posible acción antioxidante. Se obtuvieron mejoras significativas en la función endotelial de la arteria braquial, además de efectos beneficiosos en los parámetros lipídicos en suero tras la administración del extracto acuoso de la planta. La disminución de CRP indicó un menor riesgo de estos pacientes de padecer un infarto de miocardio en el futuro.

Por último, la posible variabilidad en los resultados encontrada entre los distintos conejos pertenecientes al mismo grupo experimental en nuestro estudio puede ser debida a factores genéticos que influyan en el grado de sensibilidad de un determinado animal frente a la acción hipolipemiante de la planta. Por otra parte debe destacarse que el contenido en principios activos de un producto vegetal tanto cuantitativo como cualitativo, está propenso a variaciones, porque son productos del metabolismo de las plantas, que por ser seres vivos presentan una gran diversidad genética, añadiéndole a esto además la influencia de los factores medio ambientales.

1. Durante el período de tiempo que duró el ensayo todos los animales aumentaron de peso, siendo mayor el incremento en los conejos que recibieron sólo colesterol que en los grupos alimentados con colesterol y *Sideritis* (té de peña) o colesterol y simvastatina, no alcanzando estas diferencias observadas entre los distintos grupos experimentales el nivel de significación ($p < 0,05$).
2. Los incrementos de los valores de colesterol total (CT) fueron mucho mayores en el grupo alimentado con colesterol que en el grupo control, aunque estos incrementos fueron menos acusados y similares entre sí en los que además de colesterol recibían simvastatina o *Sideritis* en la dieta, encontrándose diferencias significativas entre los grupos colesterol, *Sideritis* y simvastatina y el grupo control.
3. Los incrementos detectados en los valores de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) fueron mayores en el grupo colesterol que en los grupos control, *Sideritis* y simvastatina, encontrándose que estos dos últimos valores fueron muy similares entre sí y mostrando diferencias significativas entre los grupos colesterol, *Sideritis* y simvastatina y el grupo control y entre los grupos *Sideritis* y simvastatina y el grupo colesterol.
4. Los incrementos detectados en los valores de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) fueron menores y similares en los grupos simvastatina y *Sideritis* que en el grupo suplementado solo con colesterol, siendo estos incrementos a su vez mucho mayores que los alcanzados en el grupo control y encontrándose además diferencias significativas entre los grupos *Sideritis* y simvastatina con respecto al grupo control y con el grupo colesterol.

5. Se observa una disminución en los niveles de triglicéridos (TG) y de lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL) muy similar en todos los grupos experimentales, siendo esta disminución ligeramente inferior en el grupo colesterol que en el resto de los grupos, no existiendo diferencias significativas entre los distintos grupos en ningún caso.
6. Los valores de apolipoproteína-B (apo-B) únicamente en el grupo Sideritis presentan una tendencia global de disminución, existiendo diferencias significativas entre todos los grupos: control con respecto a colesterol, Sideritis y simvastatina; colesterol frente a Sideritis y simvastatina y entre los grupos Sideritis y simvastatina.
7. Se aprecia un incremento en los valores de índice aterogénico (IA) en todos los grupos experimentales, siendo este incremento mucho más acusado en el grupo colesterol que en los grupos control, Sideritis y simvastatina, observándose incrementos muy similares en estos dos últimos grupos y hallándose diferencias significativas entre el grupo control, colesterol y Sideritis y entre los grupos alimentados únicamente con colesterol (colesterol y Sideritis y colesterol y simvastatina).
8. Los efectos hipolipemiantes y protectores cardiovasculares obtenidos con la planta *Sideritis hyssopifolia* son muy similares a los que resultan de la administración del fármaco simvastatina: el incremento de peso fue menor en ambos grupos que en el grupo colesterol; los valores de colesterol total (CT), lipoproteínas de baja densidad (c-LDL), apolipoproteína-B (apo-B) y lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) también fueron menores que en el grupo colesterol, aunque solo hubo diferencias significativas en los dos últimos parámetros. Finalmente, los valores de lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL) y de triglicéridos (TG) sufrieron en estos dos grupos un incremento con respecto al grupo colesterol, sin que las diferencias fueran significativas.
9. La variabilidad en los resultados obtenidos en los parámetros bioquímicos en suero dentro del grupo experimental alimentado con colesterol y *Sideritis hyssopifolia* puede deberse a la diversidad genética entre individuos, dado que dicha respuesta es muy similar a la obtenida en el grupo al que se le administró colesterol y simvastatina.
10. Para confirmar los hallazgos de este trabajo experimental, son necesarios estudios dosis/respuesta a más largo plazo antes de realizar ensayos clínicos en fase I.

Referencias bibliográficas

- Aboutabl, E., Nassar, M., Elsakhawy, F., Maklad, Y., Osman, A., El-Khrisy, E., 2002. Phytochemical and pharmacological studies on *Sideritis taurica*. *Journal of Ethnopharmacology* 82, 177–184.
- Aboyans, V., Michael, H., Denenberg, J., Knoke, J., Ridker, P., Fronck, A., 2006. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation* 113, 2623–2629.
- Abreu, O. S., 1982. *Sideritis carbonellis* (Lamiaceae), una nueva especie para la flora española. *Studia botanica* 1, 21–26.
- Acevedo, M., Kramer, V., Tagle, R., Corbalán, R., Arnaíz, P., Berríos, X., Navarrete, C., 2012. Relación colesterol total HDL y colesterol no HDL: Los mejores indicadores lipídicos de aumento de grosor de la intima media carotídea. *Revista Médica de Chile* 140, 969–976.
- Ahmed, D., Mansha, M., Hannan, A., Barkaat, M., Bibi, N., 2009. Antibacterial activity of *Ballota limbata* against potential multidrug resistant human pathogens. *Journal of Applied Sciences Research* 5 (10), 1611–1614.
- Ahrens, E., Blankenhorn, D., Tsaltas, T., 1954. Effect on human serum lipids of substituting plant for animal fat in diet. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 86, 872–878.
- Alberts, A., 1988. HMG-CoA reductase inhibitors. The development. *Atherosclerosis Review* 18, 123–131.

- Alcaraz, M., Tordera, M., 1988. Studies on the gastric anti-ulcer activity of hypolaetin-8-glucoside. *Phytotherapy Research* 2, 85–88.
- Alfonso, J., Ariza, I., 2008. Elevando el colesterol HDL: ¿Cuál es la mejor estrategia? *Revista de Asociación Médica Brasileña* 54 (4), 369–376.
- Alfonso, M., Carralero, G., Quintela, A., Simón, R., 2001. Evaluación de un posible modelo experimental de aterosclerosis carotídea en conejos hipercolesterolémicos. *Revista Cubana de Investigación Biomédica* 20 (3), 192–196.
- Alisi, C., Emejulu, A., Alisi, P., Nwaogu, L., Onyema, O., April 2008. Decreased cardiovascular risk and resistance to hyperlipemia-induced hepatic damage in rats by aqueous extract of *Urtica dioica*. *African Journal of Biochemistry Research* 2 (4), 102–106.
- Amarista, F., 2008. Factores de riesgo cardiovascular. *Medicina Interna al Día* 1 (1), 8–9.
- Andrés, S., Lucena, A., Juana, P., 2004. Interacciones entre los alimentos y las estatinas. *Nutrición Hospitalaria* 19, 195–201.
- Anwar, K., Abdelhalim, K., Al-Ayed, S., December 2007. Effects of High Cholesterol and Saturated Fat Diet on the Aortic Wall Structure of New Zealand White Male Rabbits. *Saudi Journal of Biological Sciences* 14 (2), 227–236.
- Arauz-Pacheco, C., Marian, A., Raskin, P., 2002. The treatment of hypertension in adult patients with diabetes. *Diabetes Care* 25, 134–147.
- Arroyo, J., Raez, E., Rodriguez, M., Chumpitaz, V., Burga, J., de la Cruz, W., Valencia, J., 2007. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz dorado (*Zea Mays*) en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 24, 157–162.
- Asgary, S., Najafi, S., Ghannadi, A., Dashti, G., Helalat, A., 2012. Efficiency of black cumin seeds on hematological factors in normal and hypercholesterolemic rabbits. *Arya Atherosclerosis Journal* 7 (4), 146–150.
- Assmann, G., Schulte, S., Funke, H., 1998. The emergence of tryglicerides as a significant

- independent risk factor in coronary artery disease. *European Heart Journal* 19 (Suppl M), 8–14.
- Backman, J., Kyrklund, C., Kivisto, K., Wang, J., Neuvonen, P., 2000. Plasma concentrations of active simvastatin are increased by gemfibrozil. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 68 (2), 122–129.
- Badimón, J., Santos-Gallego, C., Badimón, L., 2010. Importancia del colesterol HDL en la aterotrombosis. ¿De dónde venimos?. ¿Hacia dónde vamos? *Revista Española de Cardiología* 63 (Supl.2), 20–35.
- Badimon, L., 2011. Introducción: estatinas y salud cardiovascular. *Revista Española de Cardiología* 11 (Supl.B), 1–2.
- Badimon, L., Vilahur, G., 2013. Mecanismos de acción de los diferentes agentes antiplaquetarios. *Revista Española de Cardiología* 13 (Supl.B), 8–15.
- Baker, L., Meldrum, K., Wang, M., Sankula, R., Vanam, R., Raiesdana, A., Tsai, B., Hile, K., Brown, J., Meldrum, D., 2003. The role of estrogen in cardiovascular disease. *Journal of Surgical Research* 115, 325–344.
- Baker, W., Datta, R., 2011. Pitavastatin: a New 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitor for the Treatment of Hyperlipidemia. *Advances in Therapy* 28 (1), 13–27.
- Banegas, J., Villar, F., Graciani, A., Rodríguez-Artalejo, F., 2006. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares en España. *Revista Española de Cardiología* 6 (Supl.G), 3–12.
- Barber, J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Marrero, A., Jansen, R., 2000. Evolution of endemic *Sideritis* (Lamiaceae) in Macaronesia: Insights from a chloroplast DNA restriction site analysis. *The American Society of Plant Taxonomists* 25, 633–647.
- Barber, J., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Turner, K., Jansen, R., 2002. Origin of Macaronesic *Sideritis* L. (Lamioideae, Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23, 293–306.

- Barberán, F., Nuñez, A., Tomás, F., 1985. An HPLC of flavones from some Spanish *Sideritis* species. *Phytochemistry* 24, 1285–1288.
- Baser, K., 2002. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry* 74, 527–545.
- Boekholdt, S., Ron, J., Moniek, P., Zwinderman, M., Ernst, E., Reitsma, P., Jukema, J., Kastelein, J., 2004. Interaction between a genetic variant of the platelet fibrinogen receptor and fibrinogen levels in determining the risk of cardiovascular events. *American Heart Journal* 147 (1), 181–186.
- Bosžcaiu, M., Riera, J., Estrelles, E., Giïemes, J., 1998. Chromosome numbers of several Lamiaceae from Spain. *Folia Geobotanica* 33, 187–199.
- Bosch, X., Alfonso, F., Bermejo, J., 2002. Diabetes y enfermedad cardiovascular. Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI. *Revista Española de Cardiología* 55 (5), 525–527.
- Bradley, B., Vu, M., Grunfeld, C., Lampiris, H., 2002. Simvastatin-nelfinavir interaction implicated in rhabdomyolysis and death. *Clinical Infectious Diseases* 35, e111–2.
- Bravo, L., Mateos, R., Sarriá, B., Baeza, G., Lecumberri, E., Ramos, S., Goya, L., 2014. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguensis*) in high-cholesterol fed rats. *Fitoterapia* 92, 219–229.
- Bree, A., Verschuren, W., Kromhout, D., Kluijtmans, L., Blom, H., 2002. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacological Reviews* 54, 599–618.
- Burgos, E., Gómez-Serranillos, P., Palomino, O., Carretero, E., 2009. Aspectos botánicos y farmacológicos del género *Sideritis*. *Revista de Fitoterapia* 9, 133–145.
- Cabadés, A., 2007. El estudio REGICOR y la epidemiología del infarto de miocardio en España: Se hace camino al andar. *Revista Española de Cardiología* 60 (4), 342–345.
- Cabrera, E., Garcia-Granados, A., Quecuty, M., 1988. Terpenoids from *Sideritis varoi*. *Phytochemistry* 27 (1), 183–185.

- Cahill, J. P., 2003. Ethnobotany of Chia, *Salvia hispanica*, L. *Economic Botany* 57 (4), 604–618.
- Cantin, B., Despres, J., Lamarche, B., Moorjani, S., Lupien, P., Bogaty, P., 2002. Association of fibrinogen and lipoprotein(a) as a coronary heart disease risk factor in men (The Quebec cardiovascular study). *American Journal of Cardiology* 89, 662–666.
- Carbayo, J., 2011. Nuevos marcadores de riesgo cardiovascular. ¿Pueden influir en la clasificación del riesgo cardiovascular?. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 24 (2), 57–70.
- Carikci, S., Col, C., Kilic, T., Azizoglu, A., 2007. Diterpenoids from *Sideritis tmolea* P.H Davis. *Records of Natural Products* 1, 44–50.
- Carnicer, R., Navarro, M., Guillén, N., Arbonés-Mainar, J., Surra, J., Acín, S., Osada, J., 2008. Simvastatin reverses the hypertension of heterozygous mice lacking cystathionine beta-synthase and apolipoprotein A-I. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 377, 35–43.
- Carvajal-Zarrabal, O., Hayward-Jones, P., Orta-Flores, Z., Nolasco-Hipólito, C., Barradas-Dermitz, D., Aguilar-Uscanga, M., Pedroza-Hernández, M., 2009. Effect of *Hibiscus sardarifa* L. dried calyx ethanol extract on fat absorption-excretion, and body-weight implication in rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2009, 1–5. Disponible en: <http://bit.ly/1snZ8B1>.
- Castillo, V., Colina, F., Barrios, E., Spinoza, M., Leal, U., Ruiz, N., 2011. LDL pequeña y densa en adultos y su relación con factores de riesgo cardiovascular tradicionales. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* 9 (2), 54–66.
- Chandler, W., Rodgers, G., Sprouse, J., Thompson, A., 2002. Elevated haemostatic factor levels as potential risk factors of thrombosis. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 126, 1405–1414.
- Chao, Y., Chenand, J., Hunt, V., Kuron, G., Karkas, J., Liou, R., Alberts, A., 1991. Lowering of plasma cholesterol levels in animals by lovastatin and simvastatin. *European Journal of Clinical Pharmacology (Supl.1)* 40, 11–14.

- Chenni, A., Ait Yahia, D., Boukortt, F., Prost, J., Lacaille-Dubois, M., Bouchenak, M., 2007. Effect of aqueous extract of *Ajuga Iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 207–213.
- Cheong, S., Kim, M., Sok, D., Hwang, S., Kim, J., Kim, S., Lee, J., Kim, Y., Kim, M., 2010. Spirulina prevents atherosclerosis by reducing hipercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 56, 34–40.
- Chobanian, A., Bakris, G., Black, H., Cushman, W., Green, L., Izzo, J., Jones, D., Materson, B., Oparil, S., Wright, J., Roccella., E., 2003. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High blood Pressure: The JNC 7 Report. *Journal of the American Medical Association* 289, 2560–2572.
- Companiononi, O., Esparragón, F., Medina, A., Rodríguez-Pérez, J., 2011. Genetic variants, cardiovascular risk and genome-wide association studies. *Revista Española de Cardiología* 64 (6), 509–514.
- Cui, R., Iso, H., Yamagishi, K., Saito, I., Kokubo, Y., Inoue, M., Tsugane, S., 2012. High serum cholesterol levels is a risk factor of ischemic stroke for general Japanese population: The JPHC study. *Atherosclerosis* 221, 565–569.
- Cumplido, A., 2010. Indicaciones de los hipolipemiantes. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud* 34, 41–48.
- Cutler, J., Neaton, J., Hulley, B., Kullerand, P., Stamler, J., September 1986. Relationship between baseline risk factors and coronary heart disease and total mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Preventive Medicine* 15 (12), 254–273.
- Díaz, J., Castro, M., Liem, A., 2005. Utilidad de la medición de la apolipoproteína B en la práctica clínica. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 17 (3), 142–146.
- Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2014. Catálogo de medicamentos. Simvastatina. Consejo General del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Madrid. ISBN: 9788487276637.

- Dietschy, J., 1998. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *Journal of Nutrition (Suppl.2)* 128, 444–448.
- Donnelly, L., Doney, A., Tavendale, R., Lang, C., Pearson, E., 2011. Common nonsynonymous substitutions in SLCO1B1 predispose to statin intolerance in routinely treated individuals with type 2 diabetes: a go-DARTS study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 89, 210–216.
- Dowell, F., Hamilton, C., Lindop, G., Reid, J., 1995. Development and progression of atherosclerosis in aorta from heterozygous and homozygous WHHL rabbits: Effects of simvastatin treatment. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 15, 1152–1160.
- Durrington, P., Bhatnagar, D., Mackness, M., Morgan, J., Julier, K., Khan, M., 2001. An omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrate administered for one year decreased triglycerides in simvastatin treated patients with coronary heart disease and persisting hypertriglyceridaemia. *Heart* 85, 544–548.
- Eblen-Zajjur, A., Eblen-Zajjur, M., 2001. Cálculo de la concentración de colesterol de la lipoproteína de baja densidad: análisis de regresión versus fórmula de Friedewald. *Revista Médica de Chile* 129 (11), 1263–1270.
- Echeverri, D., Buitrago, L., F.Montes, 2005. Efectos pleiotrópicos de las estatinas: características farmacológicas útiles en la prevención, tratamiento y regresión de la enfermedad cardiovascular. *Revista Colombiana de Cardiología* 12 (3), 103–112.
- Erinc, H., Tekin, A., Ozcan, M., 2009. Determinación del contenido de ácidos grasos, tocoferoles y fitoesteroles de aceites procedentes de varias semillas de adormidera (*Papaver somniferum* L.). *Grasas y Aceites* 60 (4), 375–381.
- Ernst, E., Resch, K., 1993. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Annals of Internal Medicine* 118, 956–963.
- Escola Gil, J., Cedo, L., Blanco-Vaca, F., 2014. High-density lipoprotein cholesterol targeting for novel drug discovery: Where have we gone wrong?. *Expert Opinion on Drug* 9 (2), 119–124.

- Essawy, S., Abo-elmatty, D., Ghazy, N., Badr, J., Sterner, O., 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Marrubium alysson* extracts in high cholesterol-fed rabbits. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Disponible en: <http://bit.ly/1uIwsJv>.
- Farré, A., Miguel, C., 2009. Libro de la salud Cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos y de la Fundación BBVA. Editorial Nerea, S.A. España.
- Fernandez, C., Martin, M., Gómez-Coronado, D., Lasunción, M., 2003. Efecto de los fitosteroles sobre la biosíntesis de colesterol y la proliferación en células humanas. *Clínica e investigación en Arteriosclerosis* 15 (5), 175–183.
- Fernández, C., Fraga, B., Hernández, M., 1988. Flavonoid aglycones from some Canary Islands species of *Sideritis*. *Journal of Natural Products* 51, 591–593.
- Fernández-Aguilar, O., García-Ulloa, A., Torres-Viloria, A., Zacarías-Castillo., R., 2008. Aspectos terapéuticos de las estatinas y su participación multiorgánica. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 16 (3), 120–127.
- Fichtenbaum, C., Gerber, J., Rosenkranz, S., 2002. Pharmacokinetic interactions between protease inhibitors and statins in HIV seronegative volunteers: ACTG Study 5047. *AIDS* 16, 569–577.
- Flórez, J., 2013. Fármacos hipolipoproteinemiantes. Control de la obesidad. En: Flórez, J., Armijo, J. A., África Mediavilla (Eds.), *Farmacología humana*. Masson, S.A. España, pp. 864–878, ISBN:9788445823163.
- Font Quer, P., 2000. *Plantas Medicinales. El Dioscórides Renovado*. Editorial Península. España. ISBN: 9788483072424.
- Fontes Esteves, P., Machado Kuster, R., 2008. Anuario de investigación en etnomedicina, medicinas complementarias y utilización de plantas medicinales. Ediciones José Federico Rivas Vilchis. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztalapa, México. ISBN: 9703105467.
- Food and Drug Administration, 2011. Dosis elevadas de simvastatina e incremento del riesgo de lesión muscular. *Boletín de Fármacos* 14 (1), 24–25.

- Fraga, B., Hernández, M., Fernández, C., Santana, J., 2009. A chemotaxonomic study of nine Canarian *Sideritis* species. *Phytochemistry* 70, 1038–1048.
- Gaamoussi, F., Israili, Z., Lyoussi, B., April 2010. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of an aqueous extract of *Chamaerops humilis* leaves in obese, hyperglycemic and hyperlipidemic meriones Shawi rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 23 (2), 212–219.
- Gabrieli, C., Kefalas, P., Kokkalou, E., 2005. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology* 96 (3), 423–428.
- Gabrieli, C., Kokkalou, E., 1990. A glucosylated acylflavone from *Sideritis raeseri*. *Phytochemistry* 29, 681–683.
- García, S., A.Vega, Lozano, J., Álamo, R., Lleras, S., Castrodeza, J., Gil, M., 2001. Obesity in Castile and Leon, Spain: Epidemiology and Association with other Cardiovascular Risk Factors. *Revista Española de Cardiología* 64 (1), 63–66.
- García-Sabina, A., Gulín-Dávila, J., Sempere-Serrano, P., González-Juanatey, C., Martínez-Pacheco, R., 2012. Consideraciones específicas en la prescripción e intercambio terapéutico de estatinas. *Farmacia Hospitalaria* 36 (2), 97–108.
- Ghoumari, H., Benajiba, M., Azmani, A., García-Granados, A., Martínez, A., Parra, A., Rivas, F., Socorro, O., 2005. Ent-kauranoid derivatives from *Sideritis moorei*. *Phytochemistry* 66, 1492–1498.
- Gil, M., Ferreres, F., Marrero, A., Tomás-Lorente, F., Tomás-Barberán, F., 1993. Distribution of flavonoid aglycones and glycosides in *Sideritis* species from the Canary Islands and Madeira. *Phytochemistry* 34, 227–232.
- Gofman, J., Lindgren, F., 1950. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science* 111 (2877), 166–171.
- Gomez-Serranillos, E., Palomino, O., Villarrubia, A., Cases, M., Carretero, E., Villar, A., 1997. Analysis of diterpenoids from *Sideritis* species by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 778, 421–425.

- Gonuz, B., Aysel, V., 2006. Inhibition of clotrimazole-resistant *Candida albicans* by some endemic *Sideritis* species from Turkey. *Fitoterapia* 77, 404–405.
- Gonzalez-Burgos, E., Carretero, M., Gómez-Serranillos, M., 2011. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology* 135, 209–225.
- Goya, S., Lowe, G., Whincup, P., Rumley, A., Walker, M., Lennon, L., 2002. Physical activity and hemostatic and inflammatory variables in elderly men. *Circulation* 105, 1785–1790.
- Gray, S., Fabsitz, R., Cowan, L., Lee, E., Howard, B., Savage, P., 1998. Risk Factor Clustering in the insulin resistance syndrome: The Strong Heart Study. *American Journal of Epidemiology* 148, 869–878.
- Griffith, R., Virella, G., Stevenson, H., Lopes-Virella, M., 1988. Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes: A possible mechanism of foam cell formation. *Journal of Experimental Medicine* 168, 1041–1052.
- Grundy, S., Benjamin, I., Burke, G., Chait, A., Eckel, R., Howard, B., Mitch, W., Smith, S., Sowers, J., 1999. Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 100, 1134–1146.
- Guallar-Castrillón, P., Gil-Montero, M., León-Muñoz, L., Graciani, A., Bayán-Bravo, A., Taboada, J., Banegas, J., Rodríguez-Artalejo, F., 2012. Magnitude and management of Hypercholesterolemia in the adult population of Spain, 2008-2010: The ENRICA Study. *Revista Española de Cardiología* 65 (6), 551–558.
- Guerra, Y., 2007. Oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y su relación con la patogénesis de la aterosclerosis. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 38 (1), 3–11.
- Gumprecht, J., Zychma, M., Grzeszczac, W., Kuzniewicz, R., Burak, W., Zywieck, J., Karasec, D., Otulski, I., Mosur, M., 2003. Simvastatin-induced rhabdomyolysis in a CsA-treated renal transplant recipient. *Medical Science Monitor* 9 (9), 89–91.

- Gupta, S., Mediratta, P., Singh, S., Sharma, K., Shukla, R., 2006. Antidiabetic, antihypercholesterolaemic and antioxidant effect of *Ocimum sanctum* (Linn.) seed oil. *Indian Journal of Experimental Biology* 44, 300–304.
- Gursoy, N., Tepe, B., 2009. Determination of the antimicrobial and antioxidative properties and total phenolics of two endemic Lamiaceae species from Turkish: *Ballota rotundifolia*, L. and *Teucrium chamaedrys* C. Koch. *Plant Foods for Human Nutrition* 64, 135–140.
- Gušvenc, A., Houghton, P., Duman, H., Coszkun, M., Szahin, P., 2005. Antioxidant Activity Studies on Selected Sideritis Species Native to Turkey. *Pharmaceutical Biology* 43 (2), 173–177.
- Guy, M., Stanley, L., Paul, L., Martha, K., 1999. The oxidation of lipoproteins by monocytes-macrophages. *The Journal of Biological Chemistry* 274, 25959–25962.
- Hakimoglu, F., Kizil, G., Kanay, Z., Kizil, M., Isi, H., 2007. The effect of ethanol extract of *Hypericum lysimachioides* on lipid profile in hypercholesterolemic rabbits and its in vitro antioxidant activity. *Atherosclerosis* 192 (1), 113 – 122.
- Harchaoui, K., Visser, M., Kastelein, J., Stroes, E., Dallinga-Thie, G., 2009. Triglycerides and cardiovascular risk. *Current Cardiology Reviews* 5, 216–222.
- Harnafi, H., Ramchoun, M., Tits, M., Wauters, J., Frederich, M., Angenot, L., Aziz, M., Alem, C., Amrani, S., 2013. Phenolic- acid rich extract of sweet basil restores cholesterol and triglycerides metabolism in high fat diet mice: A comparison with fenofibrato. *Biomedicine and Preventive Nutrition* 3, 393–397.
- Harris, W., Ginsberg, H., Arunakul, N., Shachter, N., Windsor, S., Adams, M., 1997. Safety and efficacy of Omacor in severe hypertriglyceridemia. *Journal of Cardiovascular Risk* 4, 385–391.
- Hassan, H., Abdel-Wahhab, M., 2012. Effect of soybean oil on atherogenic metabolic risks associated with estrogen deficiency in ovariectomized rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* 68, 247–253.
- Henderson, K., Clark, C., Lewis, T., Aggarwal, N., Beck, T., Guo, H., Lunos, S., Brearley, A.,

- Mendes de Leon, C., Evans, D., Everson-Rose, S., 2013. Psychosocial Distress and Stroke Risk in Older Adults. *Stroke* 44, 367–372.
- Herreros-Ruiz, B., Bandrés, F. (Eds.), 2009. Prevención primaria de la arteriosclerosis. Además Comunicación Gráfica, S.L. Madrid, ISBN: 978-84-936577-9-6.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsale, A., Suthisisang, C., 2006. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L. in hypercholesterolemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 103 (2), 252–260.
- Hsyu, P., Schultz-Smith, M., Lillibridge, J., Lewis, R., Kerr, B., 2001. Pharmacokinetic interactions between nelfinavir and 3-hidroxi-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors atorvastatin and simvastatin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 4, 3445–3450.
- Hurt-Camejo, E., Camejo, G., Rosengren, B., López, F., Ahlstrom, C., Fager, G., Bondgers, G., 1992. Effect of arterial proteoglycans and glycosaminoglycans on low density lipoprotein oxidation and its uptake by human macrophages and arterial smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 12, 569–575.
- Iliodromitis, E., Andreadou, I., Prokavas, E., Zoga, A., Farmakis, D., Fotopoulou, T., Loannidis, K., Paraskevaïdis, I., Kremastinos, D., 2010. Simvastatin in contrast to postconditioning reduces infarct size in hyperlipidemic rabbits: Possible role of oxidative/nitrosative stress attenuation. *Basic Research in Cardiology* 105, 193–203.
- Illingworth, D., 1999. New risk factors for coronary heart disease. *American Journal of Medicine (Supl.1)* 107, 19–21.
- Ishigam, M., Uchiyama, M., Kondo, T., Iwabuchi, H., Inoue, S., W.Takasaki, Ikeda, T., Komai, T., Ito, K., Sugiyama., Y., 2001. Inhibition of In Vitro Metabolism of Simvastatin by Itraconazole in Humans and Prediction of In Vivo Drug-Drug Interactions. *Pharmaceutical Research* 18 (5), 622–631.
- Izaguirre, R., Zaldívar, H., 2003. El fibrinógeno como factor de riesgo cardiovascular. *Archivos de Cardiología de Méjico* 73, 7–10.

- Janeesh, P., Abraham, A., 2013. Amelioration of cholesterol induced atherosclerosis by normalizing gene expression, cholesterol profile and antioxidant enzymes by *Vigna unguiculata*. *Plant Foods for Human Nutrition* 68 (2), 118–123.
- Janesca, B., Stefova, M., Alipieva, K., 2007. Assay of flavonoid aglycones from the species of genus *Sideritis* (Lamiaceae) from Macedonia with HPLC-UV DAD. *Acta Farmacéutica* 57, 371–377.
- Jeon, S., Bok Park, Y., Choi, M., 2004. Antihypercholesterolemic property of naringin alters plasma and tissue lipids, cholesterol-regulating enzymes, fecal sterol and tissue morphology in rabbits. *Clinical Nutrition* 23, 1025–1034.
- Jeppesen, J., Ole, H., Suadicani, P., Gyntelberg, F., 1998. Triglyceride Concentration and Ischemic Heart Disease: An eight-year-follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation* 97, 1029–1036.
- Jialal, I., Grudy, S., 1992. Influence of antioxidant vitamins on ldl oxidation. *Annals of the Academy New York of Sciences* 669, 237–248.
- Jimenez, A., Manez, S., Villar, A., 1990. Seasonal variation of borjatriol, an antiinflammatory diterpenoid from *Sideritis mugronensis*. *Die Pharmazie* 45 (4), 295–296.
- Jiménez, A., Millás, I., Farré, J., García-Méndez, A., Jiménez, P., Arriero, M., García-Colis, E., de Andrés, R., Gómez, J., Casado, S., López-Farré, A., 2002. Efecto de la inhibición de la HMG-CoA-reductasa sobre la proteína inductora de disfunción endotelial en conejos hipercolesterolémicos. *Revista Española de Cardiología* 55 (11), 1151–1158.
- Joshi, S., Sharma, N., Sharma, P., 2012. Antioxidant and lipid lowering effects of *Coriandrum sativum* in cholesterol fed rabbits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (Suppl. 3)* 4, 231–234.
- Kaminsky, Y., Kosenko, E., 2011. Blood cholesterol and mitochondrial toxicity of simvastatin. *Biology Bulletin Reviews* 1 (4), 293–302.
- Kamstrup, P., Tybjaerg-Hansen, A., Steffensen, R., Nordestgaard, B., 2009. Genetically elevated lipoprotein (a) and increased risk of myocardial infarction. *Journal of the American Medical Association* 301 (22), 2331–2339.

- Kannel, W., D'Agostino, R., Belanger, A., 1987. Fibrinogen, cigarette smoking and risk of cardiovascular disease: Insights from the Framingham study. *American Heart Journal* 113, 1006–1010.
- Kantola, T., 1998. Erythromycin and verapamil considerably increase serum simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 64 (2), 177–182.
- Karimi, I., Hayatgheybi, H., Razmjoo, M., Yousefi, M., Dadyan, A., 2010. Anti-hyperlipidaemic effects of an essential oil of *Melissa officinalis* L. in cholesterol- fed rabbits. *Journal of Applied Biological Sciences* 4 (1), 17–22.
- Keogh, A., Macdonald, P., Kaan, A., 2000. Efficacy and safety of pravastatin and simvastatin after cardiac transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 19, 529–537.
- Keys, A., 1970. Coronary heart disease in several countries. *Circulation* 41 (1), 186–195.
- Keys, A., Longstreet, H., Blackburn, H., Brozek, J., Anderson, J., Simonson, E., September 1963. Coronary Heart Disease among Minnesota Business and Professional men followed fifteen years. *Circulation* 28 (9), 381–395.
- Khori, V., Najafi, S., Alizadeh, A., Moheimani, H., Shakiba, D., Alizadeh, F., Nayebpour, M., 2011. Protective role of simvastatin on isolated rabbit atrioventricular node during experimental atrial fibrillation model: Role in rate control of ventricular beats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archive of Pharmacology* 385 (7), 697–706.
- Kianbakht, S., Abasi, B., Perham, M., 2011. Antihyperlipidemic effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract in patients with hyperlipidemia: a randomized double- blind placebo- controlled clinical trial. *Phytotherapy Research* 25 (12), 1849–1853.
- Kinsell, L., Partridge, J., Boling, L., Margen, S., Michaels, G., 1952. Dietary modification of serum cholesterol and phospholipid levels. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 12 (7), 909–913.
- Kirimer, N., Baser, K., Demirci, B., Duman, H., 2004. Essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to the section *Empedoclia*. *Chemistry of Natural compounds* 40, 19–23.

- Kirklund, C., Backman, J., Kivisto, K., Neuvonen, M., Laitila, J., Neuvonen, P., 2000. Rifampin greatly reduces plasma simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 68, 592–597.
- Kleinvelde, H., Demackeret, P., 1994. Comparative study on the effect of low-dose vitamin E and probucol on the susceptibility of LDL to oxidation and the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 14, 1386–1391.
- Klingenberg, R., Hasun, M., Corti, R., Lusher, T., 2012. Inflammation and atherosclerosis. *Clinical manifestations of atherosclerosis*. G.Wick and C.Grundtman eds. Viena.
- Kobayashi, T., Ito, T., Shiomi, M., 2011. Roles of the WHHL Rabbit in Translational Research on Hypercholesterolemia and Cardiovascular Diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011, 1–10. Disponible en: <http://bit.ly/1z7jenK>.
- Kremer, D., Kosir, I., Kosalec, I., Koncic, M., Potocnic, T., Cerenak, A., Bezic, N., Srecec, S., Dunkic, V., 2013. Investigation of chemical compounds, antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini*, L. (Lamiaceae). *Current Drug Targets* 14 (8), 1–8.
- Krishna, G., Ma, L., Prasad, P., Moton, A., Martinho, M., O'Mara, E., 2012. Effect of posaconazole on the pharmacokinetics of simvastatin and midazolam in healthy volunteers. *Expert Opinion in Drug Metabolism and Toxicology* 8 (1), 1–10.
- Kupeli Akkol, E., Avci, G., Kukukkurt, I., Keles, H., Tamer, U., Ince, S., Yesilada, E., 2009. Cholesterol-reducer, antioxidant and liver protective effects of *Thymbra spicata* L. var. *spicata*. *Journal of Ethnopharmacology* 126, 314–319.
- Langsted, A., Jacob, J., Nordestgaard, B., 2008. Fasting and Nonfasting lipid levels: Influence of normal food intake of lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Cardiovascular Risk Prediction. *Circulation* 118, 2047–2056.
- Lee, C., Joseph, L., Colosimo, A., Dagupta, K., 2012. Mortality in diabetes compared with previous cardiovascular disease: A gender-specific meta-analysis. *Diabetes & Metabolism* 38, 420–427.

- Lee, J., Jung, K., Park, Y., Ahn, J., Shin, S., Im, S., Oh, D., Shin, D., Kim, T., Lee, N., Byun, J., Hong, Y., Park, J., Park, S., Lim, H., Kang, W., 2009. Simvastatin plus irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) as first-line chemotherapy in metastatic colorectal patients: a multicenter phase II study. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 64, 657–663.
- Lee, L., Cho, C., Hong, H., Lee, Y., Choi, U., Kim, Y., 2013. Hypolipidemic and antioxidant properties of phenolic compound-rich extracts from White Ginseng (*Panax Ginseng*) in cholesterol-fed rabbits. *Molecules* 18, 12548–12560.
- Leitersdorf, E., Eisenberg, S., Eliav, O., Friedlander, Y., Berkman, N., Dann, E., Landsberger, D., Sehayek, E., Meiner, V., Wurm, M., Bard, J., Fruchart, J., Stein, Y., 1993. Genetic determinants of responsiveness to the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin in patients with molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 87, 35–44.
- Li, J., Fang, C., 2004. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases. *Medical Hypotheses* 62, 499–506.
- Lilja, J., Kivisto, K., Neuvonen, P., 1998. Grapefruit juice-simvastatin interaction: Effect on serum concentrations of simvastatin, simvastatin acid and HMG-CoA reductase inhibitors. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 64, 477–478.
- Lilja, J., Kivisto, K., Neuvonen, P., 2000. Duration of effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of the CYP3A4 substrate simvastatin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 68, 384–390.
- Ling, J., Wei, B., Lv, G., Ji, H., Li, S., 2012. Anti-hyperlipidaemic and antioxidant effects of turmeric oil in hyperlipidaemic rats. *Food Chemistry* 130, 229–235.
- Llaverias, G., Pou, J., Ros, E., Zambon, D., Cofan, M., Sanchez, A., Vazquez, M., Sanchez, R., Laguna, J., Alegret, M., 2008. Monocyte gene-expression profile in men with familial combined hyperlipidemia and its modification by atorvastatin treatment. *Pharmacogenomics* 9, 1035–1054.
- Llorente, V., Badimon, L., 1998. Bases celulares y moleculares de la acumulación de colesterol

- en la pared vascular y su contribución a la progresión de la placa aterosclerótica. *Revista Española de Cardiología* 51, 633–641.
- Lluis-Ganella, C., Lucas, G., Subirana, I., Sentí, M., Jimenez-Conde, J., Marrugat, J., Tomás, M., Elosua, R., 2010. Additive effects of multiple genetic variants on the risk of coronary artery disease. *Revista Española de Cardiología* 63 (8), 925–933.
- Lorenzo, P., Moreno, A., Leza, J., Lizasoain, I., Moro, M., Portolés, A., 2012. Fármacos hipolipemiantes. En: Velazquez. *Farmacología básica y clínica*. Editorial Médica Panamericana. Bogotá, Colombia, ISBN:9788498354379.
- Lóriga, F., Pérez, H., 1998. Reacciones adversas de las drogas hipolipemiantes. *Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular* 24 (2), 45–49.
- Lu, Y., He, Z., Shen, X., Xu, X., Fan, J., Wu, S., Zhang, D., 2012. Cholesterol-Lowering effect of Allicin on Hypercholesterolemic ICR mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012, 1–6. Disponible en: <http://bit.ly/1u7ulg6>.
- Lu, Z., YueRong, J., Mei, X., CaiFeng, W., JingShang, W., HuiJun., Y., 2009. Effect of simvastatin on the atherosclerotic plaque stability and the angiogenesis in the atherosclerotic plaque of rabbits. *Chinese Science Bulletin* 54, 3061–3066.
- Mancia, G., Laurent, S., Agabiti-Rosei, E., 2009. Reappraisal guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document. *Journal of Hypertension* 27, 2121–2158.
- Marinou, K., Georgopoulou, K., Agrogiannis, G., Karatzas, T., Iliopoulos, D., Papalois, A., Chatziioannou, A., Magiatis, P., Halabalaki, M., Tsantila, N., Skaltsounis, L., Patsouris, E., Dontas, I., 2010. Differential effect of Pistacia vera extracts on experimental atherosclerosis in the rabbit animal model: an experimental study. *Lipids in Health and Disease* 9 (73), 1–9.
- Marot, A., Morelle, J., Chouinard, V., Jadoul, M., Lambert, M., Demoulin, N., 2011. Concomitant use of simvastatin and amiodarone resulting in severe rhabdomyolysis: A case report and review of the literature. *Acta Clinica Belgica* 66 (2), 134–136.

- Marrero, A., 1986. Aportaciones cariológicas del género *Sideritis* L. (Lamiaceae) en las Islas Canarias. *Botánica Macaronésica* 14, 35–58.
- Marrero, A., 1988. Nuevos datos cariológicos para el género *Sideritis* L. (Lamiaceae) en las Islas Canarias. *Botánica Macaronésica* 16, 37–52.
- Marrero, A., 1992. Chromosomal evolutionary trends in the genus *Sideritis* subgenus *marrubiastrum* In: *Advances in Labiatae sciences*. Harley, R.M. and Reynolds, T. eds. Royal Botanic Gardens, Kew (London).
- Marrugat, J., Vila, J., Baena-Díez, J. M., Grau, M., Ramos, R., Sala, J., Subirana, I., Fitó, M., Elosúa, R., 2011. Validez relativa de la estimación del riesgo cardiovascular a 10 años en una cohorte poblacional del estudio REGICOR. *Revista Española de Cardiología* 64 (5), 385–394.
- Martinez, A. G., Cornide, I., Ferrer, L., Pandero, F., 2004. Revisión de dislipemias. *Panorama Actual del Medicamento* 28, 913–1024.
- Mateo, G., Pisco, J., 2000. Sobre la presencia de *Sideritis hyssopifolia* L. en el Sistema Ibérico. *Flora Montiberica* 16, 8–9.
- Matkowsky, A., Tasarz, P., Szupula, E., 2008. Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from Lamiaceae, subfamily Lamioideae. *Journal of Medicinal Plants Research* 2 (11), 321–330.
- Mayor López, M., Alvarez Rodriguez, A., 1980. *Plantas Medicinales y Venenosas de Asturias, Cantabria, Galicia, León y País Vasco*. Ayalga ediciones. España.
- McCully, K., Wilson, R., 1975. Homocysteine theory of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 22, 215–227.
- Meade, T., Mellows, S., Brozovic, M., Miller, G., Chakrabarti, R., North, W., Haines, A., Stirling, Y., Imeson, J., Thompson, S., 1986. Haemostatic function and ischaemic heart disease: Principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 2, 533–537.
- Meade, T., North, W., Chakrabarti, R., Stirling, Y., Haines, A., Thompson, S., 1980. Hae-

- mostatic function and cardiovascular death: Early results of a prospective study. *Lancet* 1, 1050–1054.
- Medina, F., 2012. Hipertensión arterial. *Revista Peruana de Cardiología* 38, 5.
- Menendez Valderrey, J., 2008. *Sideritis hyssopifolia*, L. *Asturnatura.com* 164, 1–5. Disponible en: <http://bit.ly/1AB9UwF>.
- Máñez, S., Villar, A., 1990. Seasonal variation of hypolaetin 8-glucoside in *Sideritis mugroensis*, Borja. *Phytotherapy Research* 4, 124–125.
- Mimica-Dukik, N., Bozin, B., Sokovic, M., Simin, N., 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis*, L. (Lamiaceae) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (9), 2485–2489.
- Mineo, C., Deguchi, H., Griffin, J., Shaul, P., 2006. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circulation Research* 98, 1352–1364.
- Molden, E., Andersson, K., April 2007. Simvastatin-associated rhabdomyolysis after coadministration of macrolide antibiotics in two patients. *Pharmacotherapy* 27 (4), 603–607.
- Mora, S., Rifai, N., Buring, J., Ridker, P., 2008. Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation* 118 (10), 993–1001.
- Morales, R., 2000. Diversidad en labiadas mediterráneas y macaronésicas. *Portugaliae Acta Biologica* 19, 31–48.
- Morales, R., Quintanar, A., Cabezas, F., Pujadas, A., Cirujano, S., 2010. *Flora ibérica volumen XII*. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Moreyra, A., Wilson, A., Koraym., A., 2005. Effect of combining Psyllium fiber with simvastatin in lowering cholesterol. *Archives of Internal Medicine* 165, 1161–1166.
- Movahedian, A., Ebrahim, S., Ahmadi, M., January 2009. Lipid lowering effect of ethanolic extract of aerial parts of *Peucedanum pastinacifolium* Boiss. and Hausskn. in hypercholesterolemic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 8 (4), 301–306.

- Muñoz Jáuregui, A., Alvarado-Ortiz, C., Encina Zelada, C., 2011. Fitoesteroles y fitoestanoles: Caminos saludables. *Revista Horizonte Médico* 11 (2), 93–100.
- Murty, D., Rajesh, E., Raghava, D., Raghavan, T., Surulivel, M., 2010. Hypolipidemic effect of *Arboreum plus* in experimentally induced hipercholesterolemic rabbits. *The Pharmaceutical Society of Japan* 6, 841–846.
- Nakahara, K., Kuriyama, M., Sonoda, Y., Yoshidome, H., Nakagawa, H., Fujiyama, J., 1998. Myopathy induced by hmg-coa-reductase inhibitors in rabbits: A pathological, electrofisiological and biochemical study. *Toxicology and applied Pharmacology* 152, 99–106.
- Naruse, K., Shimizu, K., Muramatsu, M., Toki, Y., Miyazaki, Y., Okumura, K., Hashimoto, H., Ito, T., 1994. Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit toracic aorta. PGH2 does not contribute to impaired endothelium-dependent relaxation. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 14, 746–752.
- Navarro, A., de las Heras, B., Villar, A., 2001. Antiinflammatory and immunomodulating properties of a sterol fraction from *Sideritis foetens* Clem. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 24, 470–473.
- Niemi, M., 2010. Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *The Journal of Clinical Pharmacology* 87, 130–133.
- Niemi, M., Pasanen, M., Neuvonen, P., 2011. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacological Reviews* 63, 157–181.
- Nordestgaard, B., Benn, M., Schnohr, P., Tybjaerg-Hansen, A., 2007. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease and death in men and women. *The Journal of the American Medical Association* 298 (3), 299–308.
- Nordøy, A., Bønaa, K., Nilsen, H., Berge, R., Hansen, J., Ingebretsen, O., 1998. Effects of simvastatin and omega-3 fatty acids on plasma lipoproteins and lipid peroxidation in patients with combined hyperlipidaemia. *Journal of Internal Medicine* 243, 163–170.
- Noto, D., Cefalú, A., Barbagallo, C., Sapienza, M., Cavera, G., Nardi, I., Pagano, M., Vivona, N., Notarbartolo, A., Averna, M., 2009. Hypertension and Diabetes Mellitus are associated

- with cardiovascular events in the elderly without cardiovascular disease. Results of a 15-year follow-up in a Mediterranean population. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 19, 321–326.
- Ntaios, G., Savopoulos, C., Grecas, D., Hatzitolios, A., 2009. The controversial role of b-vitamins in cardiovascular risk: An update. *Archives of Cardiovascular Disease* 102, 847–854.
- Ntanios, F., Homma, Y., Ushiro, S., 2002. A Spread Enriched with Plant Sterol-Esters Lowers Blood Cholesterol and Lipoproteins without Affecting Vitamins A and E in Normal and Hypercholesterolemic Japanese Men and Women. *Human Nutrition and Metabolism* 132, 3650–3655.
- Obón, C., Rivera, D., 1994. *Phanerogamarum Monographiae. A Taxonomic Revision of the Section Sideritis (Genus Sideritis) (Labiatae)*. J. Cramer. Stuttgart.
- Ohira, T., Schreiner, P., Morrisett, J., Chambless, L., Rosamond, W., Folsom, A., 2006. Lipoprotein(a) and incident ischemic stroke: The atherosclerosis risk in Communities (ARIC) study. *Stroke* 37, 1407–1412.
- Oré, R., Valdivieso, R., Arnao, I., Suárez, S., 2001. Beneficio de la suplementación de vitamina E en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Universidad Mayor de San Marcos* 62 (1), 7–12.
- Ozdemir, B., Ekbul, A., Topal, N., Sarandol, E., Sag, S., Baser, K., Cordan, J., Gullulu, S., Tuncel, E., Baran, I., Aydinlar, A., 2008. Effects of *Origanum onites* on Endothelial Function and Serum Biochemical Markers in Hyperlipidaemic Patients. *The Journal of International Medical Research* 36 (6), 1326–1334.
- Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M., Velasco-Negueruela, A., Ballesteros, M. and Sanz, J., 2006. Essential oil composition of *Sideritis hirsuta* L. from Guadalajara Province, Spain. *Flavour and Fragrance Journal* 21, 410–415.
- Palomer, X., 2012. CCL 20 se encuentra incrementado en sujetos con hipercolesterolemia y aumenta en presencia de LDL en células vasculares de músculo liso. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 24 (2), 110–111.

- Palomino, O., Gómez-Serranillos, P., Carretero, E., Villar, A., 1996. Highperformance liquid chromatography of flavonoids from *Sideritis* species. *Journal of Chromatography A* 731, 103–108.
- Pamplona, J. D., 2007. *Enciclopedia de las plantas medicinales*. Biblioteca Educación y Salud. Editorial Safeliz. Madrid.
- Pardo de Santayana, M., Blanco, E., Morales, R., 2005. Plants known as té in Spain: An ethno-pharmaco-botanical review. *Journal of Ethnopharmacology* 98, 1–19.
- Parizadeh, S., Azarpazhooh, M., Moohebati, M., Nematy, M., Ghayour-Mobarhan, M., Tavallaie, S., Rahsepar, A., Amini, M., Sahebkar, A., Mohammadi, M., Ferns, G., 2011. Simvastatin therapy reduces prooxidant-antioxidant balance: Results of a placebo-controlled cross-over trial. *Lipids* 46, 333–340.
- Patil, R. H., Prakash, K., Maheshwari, V. L., 2010. Hypolipidemic Effect of *Celastrus paniculatus* in Experimentally Induced Hypercholesterolemic Wistar Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 4, 405–410.
- Paz, P., Sosa, N., 1992. *Revision taxonomica de Sideritis L. subgénero Marrubiastrum (Moench) Mend.- Heuer (Endemismo Macaronésico)*. *Phanerogamarum monographiae XX*. J. Cramer eds. Berlín, Stuttgart, ISBN: 3-443-78002-4.
- Perk, J., de Backer, G., Gohlke, H., Graham, I., Reiner, Z., Verschuren, M., Albus, C., Benlian, P., Boysen, G., Cifkova, R., Deaton, C., Ebrahim, S., Fisher, M., Germano, G., Hobbs, R., Hoes, A., Karadeniz, S., Mezzani, A., Prescott, E., Ryden, L., Scherer, M., Syvanne, M., Reimer, W., Vrints, C., Wood, D., Zamorano, J. L., Zannad, F., 2012. Guía europea sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica (versión 2012). *Revista Española de Cardiología* 65 (10), 937.e1–e66.
- Peters, B., Klungel, O., de Boer, A., van der Zee, A. M., 2009. Genetic determinants of response to statins. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 7 (8), 977–983.
- Peters, B., Pett, H., Klungel, O., Stricker, B., Psaty, B., Glazer, N., Wiggins, K., Bis, J., de Boer, A., Maitland-van der Zee, A., 2011. Genetic variability within the cholesterol

- lowering pathway and the effectiveness of statins in reducing the risk of MI. *Atherosclerosis* 217, 458–464.
- Pickering, T., Shimbo, D., Haas, D., 2006. Ambulatory blood- pressure monitoring. *The New England Journal of Medicine* 353, 2369–2374.
- Pintó, X., Corbella, E., Figueras, R., Biarnés, J., Ricart, W., Morales, C., Falkon, L., Masana, L., 2007. Factors predictive of cardiovascular disease in patients with type-2 diabetes and hypercholesterolemia. ESODIAH Study. *Revista Española de Cardiología* 60 (3), 251–258.
- Pinto, X., Formiga, F., 2012. Las estatinas, el riesgo de diabetes y el tratamiento de la hipercolesterolemia en la población anciana. *Revista Española de Geriatria y Gerontología* 47 (6), 243–244.
- Pinto, X., Meco, J., 2005. *Medicina cardiovascular. Arteriosclerosis. Factores emergentes de riesgo cardiovascular. Tomo I.* Masson. Barcelona.
- Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., 2006. The diterpenoids from the genus *Sideritis*. *Studies in Natural Products Chemistry* 33, 493–540.
- Plat, J., Mensink, R., 2005. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: Mechanism and safety aspects. *American Journal of Cardiology* 96 (Supl.1A), 15–22.
- Polunin, O., 1982. *Guía de campo de las flores de Europa.* Ediciones Omega, S.L. España., ISBN: 8428203784.
- Prasad, D., Kabir, Z., Dash, A., Das, B., 2010. Cardiovascular risk factors in developing countries: A review of clinico-epidemiological evidence. *CVD Prevention and Control* 5, 115–123.
- Prat, J. R., 2003. Interés clínico de la determinación de la concentración de apolipoproteínas A-1 y B en el plasma. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 15 (4), 153–155.
- Pyorala, K., 2000. Ensayos cardiovasculares en la diabetes: Pasado y presente. *Revista Española de Cardiología* 53, 1553–1560.
- Qazan, W., 2008. Hipolipidaemic effects of *Ballota undulata* in rabbits. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11 (8), 1169–1172.

- Rader, D., 2014. Spotlight on HDL biology: New insights in metabolism, function, and translation. *Cardiovascular Research* 103, 337–340.
- Ramirez-Tortosa, M., Mesa, M., Aguilera, M., Quiles, J., Baro, L., Ramirez-Tortosa, C., Martinez-Victoria, E., Gil, A., 1999. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 147 (2), 371–378.
- Ramos-Esquivel, A., León-Céspedes, C., 2007. Efectos no hipolipemiantes de las estatinas. *Acta Médica Costarricense* 49 (4), 182–189.
- Rang, H., Dale, M., Ritter, J., Flower, R., Henderson, G., 2012. Atherosclerosis y metabolismo lipoproteico. En: *Farmacología*. Elsevier, España, pp. 306–313, ISBN: 9788480869089.
- Ricaurte, B., Guirguis, A., Taylor, H., Zabriskie, D., 2006. Simvastatin-Amiodarone interaction resulting in rhabdomyolysis, azotemia and possible hepatotoxicity. *Annals of Pharmacotherapy* 40, 753–757.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 20 (7), 933–956.
- Rivera, D., Obón, C., 1990. Hybridization between *Sideritis serrata* Lag. and *Sideritis bourgaeana* Boiss. (Lamiaceae) in their hybrid zone in Spain. *Life Sciences* 66, 147–154.
- Rodríguez-Lyon, L., Díaz-Lanza, A., Manuel Bernabe, M., Villaescusa-Castillo, L., 2000. Flavone glycosides containing acetylated sugars from *Sideritis hyssopifolia*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 38, 684–687.
- Roeters, J., Westerveld, T., Erkelens, W., Ernst, E., 2002. Risk factors for coronary heart disease: Implications of gender. *Cardiovascular Research* 53, 538–549.
- Ros, E., 2006. Efecto hipocolesterolemizante de los esteroides vegetales. *Jano* 1628, 76–78. Disponible en: <http://bit.ly/1ot9gMg>.
- Rye, K., Barter, P., 2014. Cardioprotective functions of HDLs. *The Journal of Lipid Research* 55, 168–179.

- Saban Ruiz, J., Fabregate Fuente, R., 2012. El papel determinante del tabaco en la disfunción endotelial, la insulinresistencia y la enfermedad cardiovascular: Control global del riesgo cardiometabólico. Díaz de Santos, Madrid (España).
- Saltiki, K., Doukas, C., Kanakakis, J., Anastasiou, E., Mantzou, E., Alevizaki, M., 2006. Severity of cardiovascular disease in women: Relation with exposure to endogenous estrogens. *Maturitas* 55, 51–57.
- Satheesh, M., Pari, L., 2008. Effect of pterostilbene on lipids and lipid profiles in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetes mellitus. *Journal of Applied Medicine* 6, 31–38.
- Schmidt, W., Spiel, A., Jilma, B., Woltz, M., Muller, M., 2008. In vivo effects of simvastatin and rosuvastatin on global gene expression in peripheral blood leucocytes in a human inflammation model. *Pharmacogenetics and Genomics* 18, 109–120.
- Seo, H., 2012. The role and clinical significance of High-Sensitivity C- Reactive Protein in Cardiovascular Disease. *Korean Circulation Journal* 42 (3), 151–153.
- Serna-Ramos, I., Negrin, L., Pérez de Paz, P., 1994. A palinological study of the genus *Sideritis* subgenus *Marrubiastrum* (Lamiaceae): Macaronesian endemism. *Grana* 33, 21–37.
- Shaguir, M., Sadiq, S., Nayak, S., Tahir, M., 2012. Hypolipidemic effect of aqueous extract of *Carum carvi* (Black Zeera) seeds in dietinduced hyperlipidemic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 25 (2), 333–337.
- Shen, W., Shi, H., Fan, W., Luo, X., Jin, B., Li, Y., 2011. The effects of simvastatin on angiogenesis studied by an original model of atherosclerosis and acute myocardial infarction in rabbit. *Molecular Biology Reports* 38, 3821–3828.
- Shinde, A., More, H., 2014. Pharmacokinetics and enhanced oral bioavailability in albino rabbits of simvastatin nanoparticles. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3, 1387–1400.
- Shukla, R., Gupta, S., Gambhir, J., Prabhu, K., Murthy, P., 2004. Antioxidant effect of aqueous extract of the bark of *Ficus bengalensis* in hypercholesterolaemic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 92 (1), 47–51.

- Sierra-Vega, M., Coto-Alcaraz, E., Díez-Liebana, M., Fernández-Martínez, M., Sahagún-Prieto, A., García-Vieitez, J., 2012. Antioxidant activity of *Sideritis hyssopifolia* infusions. En: British Pharmacological Society Conference Services. Disponible en <http://bit.ly/1vVYLPi>.
- Skoglund, B., Aspenberg, P., 2007. Locally applied simvastatin improves fracture healing in mice. *BMC Musculoskeletal Disorders* 8 (98).
- Skrabal, M., Stading, J., Monaghan, M., 2003. Rhabdomyolysis associated with simvastatin-nefazodone therapy. *Southern Medical Journal* 96 (10), 1034–1035.
- Skrzypczak-Pietraszek, E., Pietraszek, J., 2014. Seasonal changes of flavonoid content in *Melittis melissophyllum* L. (Lamiaceae). *Chemistry and Biodiversity* 11 (4), 562–570.
- Sánchez-Muñiz, F., Bastida, S., Gutiérrez-García, O., Carbajal, A., 2009. Olive oil-diet improves the simvastatin effects with respect to sunflower oil-diet in men with increased cardiovascular risk. A preliminary study. *Nutrición hospitalaria* 24 (3), 333–339.
- Socorro, O., Tarrega, I., Zafra, M., 1984. Sobre algunas *Sideritis* andaluzas. *Studia Botanica* 3, 267–271.
- Solanas, P., Masiá, R., Ramos, R., Rohlfs, I., Faixedas, T., Sala, J., Marrugat, J., Cerdón, F., Elosua, R., 2003. Comparación de la función de Framingham original y la calibrada del REGICOR en la predicción del riesgo coronario poblacional. *Medicina clínica* 121 (14), 521–526.
- Sotomayor, M., Herrera, M., Pérez-Guerrero, C., Maruenda, E., 1999. Interés terapéutico de las estatinas en el tratamiento de la aterosclerosis. *Ars Pharmaceutica* 40 (4), 217–231.
- Spalvieri, M., Oyola, M., 2011. Estatinas: Incidencia de efectos adversos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 45 (4), 727–738.
- Steinberg, 1993. Modified forms of low-density lipoprotein and atherosclerosis. *Journal of Internal Medicine* 233, 227–232.
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T., Khoo, J., Wittzsum, J., 1989. Beyond cholesterol.

- Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *The New England Journal of Medicine* 320, 915–924.
- Takahashi, Y., Zhu, H., Yoshimoto, T., 2005. Essential roles of lipoxygenases in LDL oxidation and development of atherosclerosis. *Antioxidants and Redox Signaling* 7, 425–431.
- Teixeira, P., Cutler, P., Vuilleumier, N., 2012. Autoantibodies to Apolipoprotein A-1 in cardiovascular diseases: current perspectives. *Clinical and Developmental Immunology* 2012, 1–7. Disponible en: <http://bit.ly/1qufJCl>.
- Teo, K., Ounpuu, S., Hawken, S., Pandey, M., Valentin, V., Hunt, D., Diaz, R., Rashed, W., Freeman, R., Jiang, L., Zhang, X., Yusuf, S., 2006. Tobacco use and risk of myocardial Infarction in 52 countries in the INTERHEART Study: A case-control study. *The Lancet* 368, 647–658.
- Thompson, M., Samuels, S., 2002. Rhabdomyolysis with simvastatin and nefazodone. *The American Journal of Psychiatry* 159, 1607–1607.
- Thorn, M., Finnstrom, N., Lundgren, S., Rane, A., Loof, L., 2005. Cytochromes P450 and MDR1 mRNA expresion along the human gastrointestinal tract. *British Journal of Clinical Pharmacology* 60, 54–60.
- Tokuda, S., Kaneda, T., 1979. Effect of shii-take mushroom on plasma cholesterol levels in rats. *The International Society of Mushroom Science* 10 (70), 793–796.
- Tomás-Barberán, F., Rejdali, M., Harborne, J., Heywood, V., 1988. External and vacuolar flavonoids from Ibero-North African *Sideritis* species. A chemosystematic approach. *Phytochemistry* 27, 165–170.
- Tong, J., Laport, G., Lowsky, R., 2005. Rhabdomyolysis after concomitant use of cyclosporine and simvastatin in a patient transplanted for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation* 36, 739–740.
- Torres, M., Moayedi, S., 2007. Evaluation of the acutely dyspneic elderly patient. *Clinics in Geriatric Medicine* 23, 307–325.

- Trabetti, E., 2008. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms and cardio-cerebrovascular risk. *Journal of Applied Genetics* 49 (3), 267–282.
- Tubic-Grozdanic, M., Hilfinger, J., Amidon, G., Kim, J., Kijek, P., Staubach, P., Langguth, P., 2008. Pharmacokinetics of the CYP 3A Substrate Simvastatin following Administration of Delayed Versus Immediate Release Oral Dosage Forms. *Pharmaceutical Research* 25 (7), 1591–1600.
- Tunalier, Z., Kosarand, M., Ozturk, N., Baser, H., Kirimer, H., 2004. Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chemistry of Natural Compounds* 40, 206–210.
- Ucar, M., Neuvonen, M., Luurila, H., Dahlqvist, R., Neuvonen, P., Mjorndal, T., 2004. Carbamazepine markedly reduces serum concentrations of simvastatin and simvastatin acid. *European Journal of Clinical Pharmacology* 59, 879–882.
- Undas, A., Stepien, E., Potaczek, D., Tracz, W., 2009. Tissue factor +5466A>G polymorphism determines thrombin formation following vascular injury and thrombin-lowering effects of simvastatin in patients with ischemic heart disease. *Atherosclerosis* 204, 567–572.
- Valenzuela, A., Morgado, N., 2005. Las grasas y los aceites en la nutrición humana: Algo de su historia. *Revista Chilena de Nutrición* 32 (2), 88–94.
- Valenzuela, B., Morgado, N., Agosto 2006. Breve historia de la relación entre el colesterol y las enfermedades cardiovasculares. *Revista Chilena de Nutrición* 33 (2), 130–134.
- Vanegas, A., Jaramillo, N., 2008. Intolerancia a las estatinas, un reto en la práctica clínica. *Revista Colombiana de Cardiología* 15 (2), 75–83.
- Vaquero, M., Sánchez, F., Jiménez, S., Prats, P., Higuera, F., Bastida, S., 2010. Major diet-drug interactions affecting the kinetic characteristics and hypolipidaemic properties of statins. *Nutrición Hospitalaria* 25 (2), 193–206.
- Venturella, P., Bellino, A., Marino, L., 1995. Three acylated flavone glycosides from *Sideritis syriaca*. *Phytochemistry* 38, 527–530.

- Verdu, J. M., 2009. Tratado de nutrición y alimentación. Situaciones fisiológicas y patológicas. Ed.Oceano/Ergon, Barcelona, ISBN:978-84-95199-6.
- Visavadiya, N., Soni, B., Dalwadi, N., 2009. Free radical scavenging and antiatherogenic activities of *Sesamum indicum* seed extracts in chemical and biological model systems. *Food and Chemical Toxicology* 47 (10), 2507–2515.
- Vives, S., Batlle, M., Montañé, E., Ribera, J., 2008. Rhabdomiolisis e insuficiencia renal secundaria a la interacción de simvastatina, ciclosporina A y risperidona en un paciente receptor de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. *Medicina Clínica* 131 (17), 676–679.
- Vohl, M., Szots, F., Levievre, M., Lupien, P., Bergeron, J., Gagne, C., Couture, P., 2002. Influence of LDL receptor gene mutation and apo E polymorfism on lipoprotein response to simvastatin treatment among adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 160, 361–368.
- Waheed, I., Ahmad, M., Romeeza, A., 2014. Investigation of phytochemical and antioxidant properties of methanol extracts and fractions of *Ballota limbata* (Lamiaceae). *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 76 (3), 251–258.
- Wallenfeldt, K., Bokemark, L., Wikstrand, J., Hulthe, J., Fagerberg, B., 2004. Apolipoprotein-B / Apolipoprotein-A1 in relation to the metabolic syndrome and change in carotid artery intima-media thickness during 3 years in middle-aged men. *Stroke* 35 (10), 2248–2252.
- Wang, J., Martin-MacNulty, B., Huwb, L.-Y., da Cunha, V., Post, J., Hinchman, J., Bergogna, R., Sullivan, M., Dole, W., Kauser, K., 2002. Anti-atherosclerotic effect of simvastatin depends on the presence of apolipoprotein E. *Atherosclerosis* 162, 23–31.
- Watkins, J., Atkinson, B., Pagliaro, L., 2011. Rhabdomyolysis in a prostate cancer patient taking Ketoconazole and simvastatin: Case report and review of the literature. *The Annals of Pharmacotherapy* 45 (e9).
- Watkins, P., 1992. Drug metabolism by cytochromes P450 in the liver and small bowel. *Gastroenterology Clinics of North America* 21, 511–526.

- Watson, A., Subbanagounder, G., Welsbie, D., Faull, K., Navab, M., Jung, M., Fogelman, A., Berliner, J., 1999. Structural identification of a novel pro-inflammatory epoxyisoprostane phospholipid in mildly oxidized low density lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry* 274 (35), 4787–4798.
- Webber, M., Mahmud, W., Lightfoot, J., Shekhar, A., 2004. Rhabdomyolysis and compartment syndrome with coadministration of risperidone and simvastatin. *Journal of Psychopharmacology* 18 (3), 432–434.
- Weiss, A., Beloosesky, Y., Schmilovitz-Weiss, H., Grossman, E., Boaz, M., 2013. Serum total Cholesterol: A mortality predictor in elderly hospitalized patients. *Clinical Nutrition* 32, 533–537.
- Wibaut-Berlamont, V., Randi, A., Mandryko, V., Lunnon, M., Haskard, D., Naoumova, R., 2004. Atorvastatin affects leukocyte gene expression in dyslipidemia patients: In vivo regulation of hemostasis, inflammation and apoptosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 3, 677–685.
- Witztum, J., Steinberg, D., 1991. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 88, 1785–1792.
- Wu, Y., Hong, C., Lin, S., Wu, P., Shiao, M., 1998. Increase of vitamin E Content in LDL and reduction of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits by a water soluble antioxidant rich fraction of *Salvia miltiorrhiza*. *Arteriosclerosis* 18, 481–486.
- Yañez, M., Davalos, A., 2008. Estatinas y accidente cerebrovascular. *Medicina Clinica* 12, 453–454.
- Yakusheva, E., Popova, N., 2012. Pharmacokinetic parameters of beta-hydroxyacid simvastatin in experimental hypothyroidism. En: Zarzuelo, A., Jiménez, R. (Eds.), *Proceedings of the 6th European Congress of Pharmacology*. Medimond. Italy. ISBN: 9788875876708.
- Yordanova, Z., Zhiponova, M., Iakimova, E., Dimitrova, M., Kapchina-Toteva, V., 2014. Revealing the reviving secret of the white dead nettle (*Lammium album*, L.). *Phytochemistry Review* 13, 375–389.

- Young, I., Woodside, J., 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54, 176–186.
- Zacaria, Z., Aziz, R., Lachimanan, Y., Sreenivasan, S., Rathinam, X., 2008. Antioxidant activity of *Coleus blumei*, *Orthosiphon Stamineus*, *Ocimum basilicum* and *Mentha arvensis* from Lamiaceae family. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 2 (1), 93–95.
- Zimetbaum, P., Frishman, W., Kahn, S., 1991. Effects of gemfibrozil and other fibric acid derivatives on blood lipids and lipoproteins. *The Journal of Clinical Pharmacology* 31 (1), 25–37.
- Zorio, E., Falco, C., Arnau, M., España, F., Osa, A., Ramon, L., 2006. Lipoprotein(a) in young individuals as a marker of the presence of ischemic heart disease and the severity of coronary lesions. *Haematologica* 91, 562–565.