



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Determinación de los Niveles Séricos de *Angiopoietin-Like 3 (ANGPTL3)* en Mujeres Gestantes Sanas y Preeclámpcticas. Un Estudio Longitudinal en la Ciudad de Bogotá**

**Andrés Castro Pinzón**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina  
Departamento de Medicina Interna  
Bogotá, Colombia

2019



# **Determinación de los Niveles Séricos de *Angiopoietin-Like 3 (ANGPTL3)* en Mujeres Gestantes Sanas y Preeclámpticas. Un Estudio Longitudinal en la Ciudad de Bogotá**

**Andrés Castro Pinzón**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título  
de:

**Especialista en Endocrinología**

Director (a):

Dra. María Fernanda Garcés

Codirector (a):

Dr. Luis Miguel Maldonado Acosta

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

Bogotá, Colombia

2019



*Para mi familia. Porque en cada momento de mi vida siento el amor incondicional y el apoyo que me mantiene disfrutando este camino. Siempre están y estarán presentes en cada paso que dé, y será gracias a ustedes y por ustedes.*

*Espero puedan sentir el mismo amor de parte mía, porque siempre estaré ahí.*



# Agradecimientos

Primero gracias a la Universidad Nacional de Colombia por darme la oportunidad de crecer como persona y profesional. A mis profesores por la paciencia y el amor que tienen por enseñarnos cada día no solo conocimientos académicos sino por ser el modelo de personas y seres humanos que espero algún día poder emular.

Especiales agradecimientos al Dr. Jorge Eduardo Caminos, Dra. María Fernanda Garcés, Dr. Luis Miguel Maldonado, Dr. Roberto Franco y Dr. Juan Manuel Arteaga. Por permitirme hacer parte de este grupo y guiarme en el desarrollo de este trabajo .

Por último, pero no menos importante, gracias a mis compañeros, que también son colegas y amigos, por darme una palabra de ánimo, una sonrisa o simplemente por escucharme e intentar ayudarme cada que lo he necesitado a lo largo de estos años, han hecho que todo sea mucho más fácil.

.



## Resumen

**Introducción:** La ANGPTL-3 es una proteína que regula negativamente la actividad de la LPL, por lo que podría tener un rol importante en el metabolismo lipídico durante la gestación.

**Métodos:** El presente es un estudio de cohorte prospectivo con el objetivo de determinar los niveles séricos *Angiopoietin-Like 3 (ANGPTL3)* en mujeres sanas y preeclámplicas durante tres periodos de la gestación y tres meses postparto y correlacionarlos con variables bioquímicas, hormonales e índices antropométricos. Este incluye un grupo de mujeres gestantes sanas (n=52), seguidas durante tres periodos de la gestación: temprano, intermedio, tardío y 19 de estas mujeres fueron analizadas tres meses postparto. Adicionalmente, se seleccionaron 21 gestantes pertenecientes a la misma cohorte que desarrollaron preeclampsia leve.

**Resultados:** Los niveles de ANGPTL-3 de las mujeres no gestantes fueron mayores que en el primer trimestre de la gestación sana (119.28 ng/mL vs 72.78 ng/mL,  $P < 0.05$ ). Durante la gestación sana se observa una disminución estadísticamente significativa de la ANGPTL-3 en el primer trimestre, sin cambio significativo en el segundo trimestre y con un aumento estadísticamente significativo en el tercer trimestre pero que siguen siendo menores que los niveles de ANGPTL-3 de las pacientes no gestantes, que vuelve a sus valores basales después del parto. No se encontraron diferencias significativas en niveles de ANGPTL-3 entre las gestantes sanas y las gestantes con preeclampsia leve en ninguno de los trimestres de la gestación. No se encontró correlación consistente de ANGPTL-3 con los niveles de triglicéridos en los grupos de gestantes y hubo correlación de los niveles de c-LDL a lo largo de la gestación con preeclampsia leve ( $P < 0.05$ ).

**Conclusión:** La caída de los niveles de ANGPTL-3 mediada probablemente por la sensibilidad a la insulina libera a la LPL de la inhibición de la ANGPTL-3 para poder ser

regulada por otras hormonas, placentarias y no placentarias, con el fin de organizar el metabolismo energético de la gestación en sus diferentes fases

**Palabras clave: Angiopietin-Like 3, ANGPTL-3 en gestación, metabolismo lipídico en gestantes, lipoproteinlipasa y gestación.**

## Abstract

Introduction: ANGPTL-3 is a protein that regulates the activity of LPL and could have an important role in lipid metabolism during pregnancy.

Methods: This is a prospective cohort study aiming to measure serum Angiotensin-Like 3 (ANGPTL3) levels in healthy and preeclamptic women during three periods of gestation and three months postpartum and to correlate them with biochemical, hormonal and anthropometric indices. This includes a group of healthy pregnant women ( $n = 52$ ), followed for three periods of gestation: early, intermediate, late and 19 of these women were analyzed three months postpartum. Additionally, data of 21 pregnant women belonging to the same cohort who developed mild preeclampsia were selected and analyzed.

Results: ANGPTL-3 levels in non-pregnant women were higher than women in the first trimester of healthy pregnancy (119.28 ng / mL vs 72.78 ng / mL,  $P < 0.05$ ). During healthy pregnancy, a statistically significant decrease in serum ANGPTL-3 was observed in the first trimester, with no significant change in the second trimester and with a statistically significant increase in the third trimester, but still lower than the ANGPTL-3 levels of non-pregnant patients, which returns to their baseline values after delivery. No significant differences were found in ANGPTL-3 levels between healthy pregnant women and pregnant women with mild pre-eclampsia in any of the trimesters. There was no consistent correlation of ANGPTL-3 with triglyceride levels in the groups of pregnant women, and there was a correlation of LDL-C levels throughout gestation with mild pre-eclampsia ( $P < 0.05$ ).

Conclusion: The decrease in ANGPTL-3 levels, probably mediated by insulin sensitivity, frees LPL from the inhibition of ANGPTL-3 and it can be regulated by other hormones, placental and non-placental, in order to organize the gestation energy metabolism in its different phases.

**Keywords:** Angiopoietin-Like 3, ANGPTL-3 in pregnancy, lipid metabolism in pregnant women, lipoprotein lipase, and pregnancy.

# Contenido

<b>Agradecimientos.....</b>	<b>VII</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>IX</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>XI</b>
<b>Contenido.....</b>	<b>XIII</b>
<b>1. Marco teórico.....</b>	<b>3</b>
1.1 Metabolismo lipídico.....	3
1.1.1 Vía exógena (lípidos de la dieta).....	3
1.1.2 Vía Endógena.....	5
1.1.3 Transporte reverso de colesterol y el C-HDL.....	7
1.1.4 Adiponectina.....	8
1.1.5 Leptina.....	10
1.2 Metabolismo energético de la gestación.....	12
1.2.1 Fase anabólica de la gestación.....	12
1.2.2 Fase catabólica de la gestación.....	13
1.2.3 Leptina, adiponectina y gestación.....	14
1.2.4 Perfil lipídico durante la gestación.....	15
1.2.5 Perfil lipídico y preeclampsia.....	17
1.3 Lipoproteín Lipasa (LPL).....	19
1.3.1 Regulación de la LPL.....	20
1.3.2 LPL en tejido adiposo y muscular.....	21
1.4 LPL y gestación.....	23
1.5 <i>Angiopoietin-Like 3</i> (ANGPTL3).....	25
1.5.1 Expresión de ANGPTL-3.....	25
1.5.2 Efectos de ANGPTL-3.....	27
1.5.3 ANGPTL-3 y ANGPTL-8.....	27
1.5.4 Modelo ANGPTL-3, 4 y 8.....	27
1.5.5 Evidencia clínica de la acción de ANGPTL-3.....	28
1.5.6 ANGPTL-3 e insulina en humanos.....	29
1.5.7 ANGPTL-3 y leptina en humanos.....	30
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>31</b>
2.1 Objetivo General.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
<b>3. Métodos.....</b>	<b>32</b>

---

3.1	Pacientes y diseño del estudio.....	32
3.2	Pruebas de laboratorio.....	33
3.3	Determinación de los niveles séricos de ANGPTL-3.....	34
3.4	Análisis estadístico.....	34
3.5	Aspectos Éticos.....	35
<b>4.</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>37</b>
4.1	Mujeres no gestantes.....	37
4.2	Mujeres gestantes sanas .....	39
4.3	Mujeres gestantes con preeclampsia .....	42
4.4	Mujeres en posparto .....	45
4.5	ANGPTL-3.....	46
4.5.1	No gestantes, gestantes sanas y posparto.....	46
4.5.2	Gestantes preeclámpticas .....	50
4.6	Correlaciones.....	52
4.6.1	No gestantes.....	52
4.6.2	Gestantes sanas .....	55
4.6.3	Gestantes con preeclampsia .....	57
4.6.4	Posparto.....	62
<b>5.</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>65</b>
<b>6.</b>	<b>Limitaciones .....</b>	<b>68</b>
<b>7.</b>	<b>Conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>70</b>
<b>8.</b>	<b>Referencias bibliográficas .....</b>	<b>72</b>

## Lista de figuras

Figura 1. Comparación de los niveles de ANGPTL-3 de fase folicular con fase lútea del ciclo menstrual en mujeres no gestantes. ....	38
Figura 2. Niveles de ANGPTL-3 en no gestantes (NG) y durante la gestación sana.....	41
Figura 3. Niveles de ANGPTL-3 durante la gestación con preeclampsia leve. ....	44
Figura 5. Comparación ANGPTL-3 gestantes sanas y posparto.....	48
Figura 6. Comparación ANGPTL-3 no gestantes y posparto. ....	49
Figura 7. Comparación ANGPTL-3 no gestante y gestante con preeclampsia leve. ....	50
Figura 9. Comparación ANGPTL-3 gestante sana (GS) y gestante con preeclampsia leve (PE).....	51
Figura 10. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes y C-VLDL.....	52
Figura 11. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes y Triglicéridos .....	53
Figura 12. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes con razón Triglicéridos/HDL .....	53
Figura 13. Correlación ANGPTL-3 lútea en no gestantes y Glucemia basal.....	54
Figura 14. Correlación ANGPTL-3 y glucemia basal en el primer trimestre de gestación sana. ....	55
Figura 15. Correlación ANGPTL-3 y glucemia basal en el segundo trimestre de gestación sana. ....	56
Figura 16. Correlación ANGPTL-3 y colesterol total en primer trimestre de preeclampsia. ....	57
Figura 17. Correlación ANGPTL-3 y C-HDL en primer trimestre de preeclampsia. ....	58
Figura 18. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL en primer trimestre de preeclampsia. ....	58
Figura 19. Correlación ANGPTL-3 y colesterol total en segundo trimestre de gestación con preeclampsia leve .....	59
Figura 20. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL total en segundo trimestre de gestación con preeclampsia leve.....	60
Figura 21. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL en tercer trimestre de gestación con preeclampsia leve.....	61
Figura 22. Correlación ANGPTL-3 y C-HDL en mujeres posparto. ....	62

## Lista de tablas

Tabla 1. Características mujeres no gestantes.....	38
Tabla 2. Perfil lipídico en gestación sana. ....	39
Tabla 3. Otras variables metabólicas en gestación sana .....	40
Tabla 4. Diferencias entre niveles de ANGPTL-3 por trimestre en gestante sana.....	42
Tabla 5. Perfil lipídico en gestación con preeclampsia leve.....	42
Tabla 6. Otras variables en gestación con preeclampsia leve.....	43
Tabla 7. Diferencias entre niveles de ANGPTL-3 por trimestre en gestante con preeclampsia leve .....	44
Tabla 8. Características mujeres en posparto (n=19).....	45
Tabla 9. Otras variables mujeres en posparto (n=19) .....	46
Tabla 10. Niveles de ANGPTL-3 de no gestantes y gestantes sanas.....	47
Tabla 11. Niveles de ANGPTL-3 no gestantes, gestantes sanas y posparto.....	49
Tabla 12. Niveles de ANGPTL-3 de todos los grupos evaluados. ....	51
Tabla 13. Correlaciones con ANGPTL-3 en no gestantes mediante coeficiente de correlación de Spearman.....	54
Tabla 14. Correlaciones con ANGPTL-3 en gestantes sanas mediante coeficiente de correlación de Spearman.....	56
Tabla 15. Correlaciones con ANGPTL-3 en gestantes con preeclampsia leve mediante coeficiente de correlación de Spearman.....	61
Tabla 16. Correlaciones con ANGPTL-3 en posparto mediante coeficiente de correlación de Spearman.....	62





# 1. Marco teórico

## 1.1 Metabolismo lipídico

Las moléculas lipídicas fundamentales para el ser humano, como el colesterol, los triglicéridos y los fosfolípidos son hidrofóbicas y requieren unirse a proteínas, formando lipoproteínas, para poder ser transportadas en el plasma (1). Una lipoproteína es una molécula que está compuesta por lípidos hidrofóbicos en el centro o núcleo, lípidos hidrofílicos en la periferia y que está asociada a proteínas llamadas apolipoproteínas (Apo) que le otorgan una base estructural, así como especificidad para ciertos ligandos y enzimas importantes en el control del metabolismo lipídico (2). Se describen tres vías principales en el metabolismo de los lípidos: la exógena (metabolismo de los lípidos de la dieta), endógena (metabolismo de los lípidos hepáticos) y el transporte reverso mediado principalmente por el colesterol HDL (C-HDL) (3).

### 1.1.1 Vía exógena (lípidos de la dieta)

Las grasas que se consumen en la dieta son descompuestas en el intestino por enzimas, principalmente por la Lipasa Pancreática, que hidroliza los triglicéridos produciendo ácidos grasos libres y glicerol. Estas moléculas se combinan con otras moléculas como el colesterol, los esteroides vegetales, las vitaminas liposolubles, entre otras, para formar micelas y de esta manera alcanza la superficie luminal del enterocito (4).

El colesterol y los ésteres vegetales son transportado desde la luz intestinal a través de la membrana apical del enterocito al espacio intracelular por medio del *Niemann-Pick C1-Like Protein 1* (NPC1L1), el cual puede ser inhibido farmacológicamente por el ezetimibe (5). La mayor parte del de los esteroides vegetales y un pequeño porcentaje de colesterol son devueltos a la luz intestinal por la acción de las proteínas transportadoras ABCG5 (G5) y ABCG8 (G8) (6). Una vez en el interior del enterocito el colesterol es esterificado

por medio de la enzima *acil-CoA:colesterol acil transferasa* (ACAT), que le proporciona un ácido graso. Por otra parte, los ácidos grasos libres difunden pasivamente y por medio de transportadores como CD36 y FATP4 (7). Una vez dentro del enterocito, los ácidos grasos libres pueden usarse para esterificar el colesterol o unirse con el glicerol por medio de reacciones enzimáticas mediadas por las transferasas de monoacilglicerol y diacilglicerol (MAGT y DAGT) para formar nuevamente triglicéridos (8).

El enterocito tiene la capacidad de sintetizar la apolipoproteína Apo-B48 en el retículo endoplásmico y la *proteína microsomal de transferencia de triglicéridos* (MTP) transporta los lípidos hacia éste para formar el Quilomicrón (QM). La lopitamida es un fármaco capaz de inhibir la acción de MTP y es una opción en el tratamiento de las hipercolesterolemias familiares (9). De esta manera se forma el (QM), una lipoproteína grande (75-1200 nm) rica en triglicéridos y con una densidad muy baja.

Una vez ensamblado, el QM sale al sistema linfático y antes de llegar al hígado entra en contacto con tejidos periféricos como el músculo y el tejido adiposo. En estos tejidos se expresa la lipoproteín-lipasa (LPL) (ver más adelante), una enzima localizada en el endotelio que puede hidrolizar triglicéridos a glicerol y ácidos grasos libres. La insulina aumenta la actividad de la LPL del tejido adiposo, promoviendo la hidrólisis de los triglicéridos e inhibiendo la lipólisis dentro del adipocito, de esta manera, fomentando el estado anabólico característico de esta hormona (10).

El QM, además de Apo-B48, tiene otras apolipoproteínas como Apo-CII, Apo-E y Apo-A5. ApoC-II es un cofactor activador de la LPL que potencia la capacidad de hidrolizar los triglicéridos que el QM transporta produciendo ácidos grasos libres (AAL) que ingresan a la célula muscular o adiposa por medio de los transportadores CD36 y FTAP, mientras que algunos otros AAL se unen a la albumina para ser transportados a otros tejidos. Estos ácidos grasos son convertidos en la célula adiposa nuevamente a triglicéridos para ser almacenados mientras que en el músculo cardiaco son oxidados para producir energía (2).

Debido a la acción de la LPL, el QM disminuye su contenido de triglicéridos y se forma una molécula rica en ésteres de colesterol y carente de Apo-CII, la cual es donada al C-HDL. Esta molécula es el remanente de QM, que al tener todavía Apo-E, tiene la

capacidad de ser reconocida por el receptor de LDL (LDL-R) hepático y al no tener ya Apo-CII pierde la capacidad de activar la LPL. De esta manera el colesterol ingerido en la dieta llega al hígado mientras que los triglicéridos se quedan en principalmente en tejido adiposo y tejido muscular (11).

### 1.1.2 Vía Endógena

En el hepatocito, el colesterol y los triglicéridos son transferidos a la apolipoproteína que produce esta célula, la Apo-B100, la cual es codificada por el mismo gen de la Apo-B48 en el enterocito, sin embargo, en el caso de la célula intestinal se presenta un codón de parada prematuro que trunca la expresión de la apolipoproteína y solo se completa la expresión del 48% de esta, sin perder la función. Al unirse los lípidos con la Apo-B100, en un proceso similar al de la célula intestinal también, por medio de la MTP se forma el colesterol de muy baja densidad (VLDL) (12).

La formación de VLDL depende de la concentración de triglicéridos que haya en la célula hepática, a mayor sustrato mayor VLDL se formará, mientras que si no hay triglicéridos la Apo-B100 será degradada por el sistema ubiquitina-proteosoma (13). La insulina es fundamental en la regulación de la formación del VLDL ya que cuando hay resistencia a la insulina en los tejidos periféricos como el músculo y el tejido adiposo, disminuye la actividad de la LPL y no se hidrolizan los TG de moléculas como el QM o el mismo VLDL, lo que produce un aumento del sustrato para formar VLDL en el hepatocito. Por otro lado, en la célula hepática la insulina disminuye la expresión de Apo-B100, efecto que no ocurre cuando hay resistencia. De esta manera, tanto la resistencia a la insulina periférica y central promueven la formación de VLDL (14).

Al salir del hepatocito, el VLDL llega a músculo y tejido adiposo en donde la LPL localizada en el endotelio de estos tejidos hidroliza los triglicéridos de la lipoproteína en un proceso muy similar al que le ocurre al QM, explicado previamente. Si se presenta un exceso de QM en sangre, por ejemplo, en una dieta rica en grasas, el mismo QM impide que el VLDL sea hidrolizado de manera efectiva aumentando las concentraciones plasmáticas del último. Cuando la LPL hidroliza los triglicéridos del VLDL se forma un

remanente de VLDL al que se le conoce como colesterol de densidad intermedia (C-IDL)(12).

El C-IDL es rico en ésteres de colesterol y tiene Apo-E (similar al remanente de QM), por lo que es afín a receptores hepáticos como el LDL-R y el *lipoprotein receptor-related protein 1* (LRP-1), sin embargo, no es endocitado inmediatamente por estos receptores. Antes de eso, la lipasa hepática (LH) hidroliza los pocos triglicéridos del IDL, dejando una molécula rica predominantemente en colesterol y con Apo-B100, el colesterol de baja densidad (C-LDL) (3).

El C-LDL se encarga de transportar el colesterol principalmente hacia el hígado, pero también a tejido adiposo y muscular. También es el tipo de colesterol implicado en la aterogénesis y el riesgo de enfermedad cardiovascular. Los niveles plasmáticos de LDL dependen de los LDL-R localizados especialmente en el hepatocito, por lo que la regulación del LDL-R es muy importante en el metabolismo lipídico. Cuando los niveles de colesterol dentro del hepatocito son bajos, la proteína fijadora del elemento regulador de los esteroides (SREBP) se transloca al núcleo para aumentar la expresión de genes que codifican las proteínas que componen la maquinaria encargada de producir colesterol endógeno (enzimas como la HMG-CoA Reductasa, diana terapéutica de las estatinas) y de LDL-R, aumentando el número de estos y promoviendo la endocitosis del LDL, que finalmente lleva a una disminución de los niveles plasmáticos de esta lipoproteína. Lo contrario ocurre cuando hay altos niveles de colesterol dentro de la célula hepática y en este caso el SREBP se queda en el citoplasma y no se expresan estos genes (15). Por otra parte, el exceso de colesterol produce un aumento de colesterol oxidado u oxisterol en el hepatocito, que activa el *Liver X Receptor* (LXR), un factor de transcripción que promueve la degradación del LDL-R, disminuyendo la endocitosis del LDL y por tanto las concentraciones de colesterol intracelulares (16).

El LDL-R está presente tanto en hígado como en tejidos periféricos y es capaz de reconocer a ApoE y ApoB100, interviniendo entonces en la endocitosis de VLDL, C-IDL, C-LDL y remanentes de QM, además de C-LDL. Una vez endocitado el C-LDL, la lipoproteína en complejo con el LDL-R es llevada a los lisosomas donde se libera el colesterol y el LDL-R puede ser degradado o volver a la superficie celular. La *proprotein convertase subtilisin-kexin type 9* (PCSK-9) es una proteína que se une al LDL-R que está

intracelular y promueve la destrucción de éste en el lisosoma, impidiendo el “reciclaje” del receptor y disminuyendo los LDL-R en la superficie celular. Esta proteína es una diana terapéutica con anticuerpos monoclonales que inhiben la acción fisiológica, los inhibidores de PCSK-9 (17).

La vía endógena entonces es responsable de llevar triglicéridos hacia el músculo y el tejido adiposo y de transportar colesterol hacia tejidos periféricos.

### 1.1.3 Transporte reverso de colesterol y el C-HDL

La principal apolipoproteína que compone el C-HDL es la Apo-A1, sintetizada en el enterocito y principalmente en el hepatocito, que puede secretar hasta el 80% del total del C-HDL plasmático. Una vez sintetizada, Apo-A1 recibe fosfolípidos y colesterol libre de esas mismas células. En el eflujo de colesterol desde la célula interviene el transportador ABCA1, que se encarga de proporcionar los primeros lípidos a la Apo-A conformando un C-HDL inmaduro. Posteriormente el ABCG1 termina de realizar esta tarea convirtiéndolo en un C-HDL maduro. Los transportadores ABCA y ABCG están presentes en el tejido muscular, adiposo y en los macrófagos. Durante la hidrólisis de los triglicéridos del VLDL y los QM, el C-HDL obtiene también fosfolípidos y triglicéridos, que los hacen más susceptibles de ser degradados por lipasas. Estas lipoproteínas también donan otras apolipoproteínas al C-HDL, como Apo-CII y Apo-E (18).

Una vez maduro, el C-HDL entra en contacto con los tejidos periféricos, donde por medio de los transportadores ABCA y ABCG1 recibe colesterol libre (no esterificado) que por ser hidrofílico se ubica en la periferia de la molécula. La enzima *Lecitin Colesterol Acil Transferasa* (LCAT), producida en el hígado y activada por Apo-A1, esterifica el colesterol tomando un ácido graso de un fosfolípido y uniéndolo al colesterol para que pueda ser internalizado al núcleo del C-HDL, permitiendo así que la periferia quede libre para seguir captando colesterol. En el plasma también la *Proteína transportadora de ésteres de colesterol* (PTEC), que interactúa con el C-HDL y las moléculas ricas en triglicéridos (VLDL y QM), produciendo que el C-HDL les entregue colesterol esterificado y reciba triglicéridos. Cuando se intercambian estos lípidos en exceso, el C-HDL queda rico en triglicéridos y es blanco fácil de las lipasas, por ejemplo, la hepática, que al

remover gran cantidad de triglicéridos deja una molécula de C-HDL muy pequeña que fácilmente pierde la Apo-A1 y es degradada, disminuyendo los niveles plasmáticos de C-HDL. En estados de resistencia a la insulina, la actividad de la lipasa hepática aumenta, disminuyendo concentraciones de C-HDL.

El C-HDL entrega su contenido de colesterol principalmente en el hígado, donde se une al receptor *Scavenger receptor class B type 1 (SR-B1)* sin internalizarse y entrega el colesterol, volviendo a la circulación periférica más pequeño y ávido de nuevo colesterol (19). En resumen, el C-HDL entonces, transporta el colesterol de los tejidos periféricos al hígado de dos formas: directamente por medio de los receptores SR-B1 hepáticos e indirectamente a través de QM y VLDL, por la acción de la enzima PTEC. Además también entrega colesterol en tejidos esteroideogénicos como la corteza suprarrenal, el testículo y el ovario (20,21).

La Apo-A1 es degradada principalmente en el riñón y una pequeña parte en el hígado. Entre más pequeña sea la molécula de C-HDL, es más fácil que se filtre y se elimine por vía renal. En el hígado parecen ser endocitadas por medio de Apo-E(19).

Las células del cuerpo humano no tienen la capacidad de degradar el colesterol y niveles intracelulares altos pueden llevar a toxicidad al aumentar la concentración de colesterol oxidado, por lo que es necesario transportarlo hacia el hígado para que pueda ser eliminado en forma de ácidos biliares. En este proceso es fundamental el macrófago, que por medio del receptor SB-R1 y el transportador ABCA, entrega colesterol al C-HDL, ayudando en la maduración de este y promoviendo el transporte del exceso de colesterol hacia el hígado. Cuando el macrófago o la célula periférica, tiene exceso de colesterol intracelular aumenta la expresión de LXR, lo que promueve la síntesis de ABCA1 y ABCG1 e inhibe la traslocación de SREBP1, disminuyendo la degradación de ABCA1 y ABCG1, lo contrario ocurre cuando hay niveles bajos de colesterol intracelular (22).

#### **1.1.4 Adiponectina**

Es uno de los compuestos más importantes secretados por el tejido adiposo. Se trata de una proteína de 244 aminoácidos que puede tener varias isoformas en el sistema circulatorio e interviene en la regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos por medio de los receptores de adiponectina: adipoR1 y adipoR2 (23). En general, esta hormona aumenta la sensibilidad a la insulina en varios tejidos y promueve una expansión adecuada del tejido adiposo, lo cual previene la acumulación de grasa ectópica, es decir, fuera del adipocito (24).

La adiponectina aumenta sus concentraciones circulantes de manera inversamente proporcional con la masa de tejido adiposo. En el adipocito promueve la lipogénesis y el acúmulo de grasa, razón por la cual se dice que promueve un crecimiento sano del tejido adiposo. También se reporta que aumenta la internalización de la glucosa promoviendo la expresión de GLUT 4 (25).

En el hígado se expresan ambos receptores de adiponectina. Por medio de adipo R1, se activan la *proteín kinasa de AMP* (AMPK) y los receptores PPAR alfa, causando disminución de la lipogénesis y aumento la beta oxidación. Por la vía AMPK también inhibe la expresión de SREBP. Además, inhibe la acumulación de ceramidas en el tejido hepático aumentando la actividad de enzimas ceramidasa, estimulada por el factor de crecimiento fibroblástico 21, protegiendo la sensibilidad central a la insulina (26,27). En el músculo la adiponectina potencia la lipólisis por vías similares a las mencionadas en el tejido hepático (AMPK y PPAR), de esta manera protegiendo la sensibilidad periférica a la insulina (28,29).

En modelos murinos se ha asociado la adiponectina con un aumento de la actividad de la LPL en tejido periférico (músculo), disminuyendo los triglicéridos circulantes a expensas del metabolismo periférico de VLDL (30). Por otro lado se ha asociado inversamente la concentración de adiponectina con la actividad pos heparina de la Lipasa Hepática, lo que podría influir en el aumento del C-HDL que produce la adiponectina, al disminuir el catabolismo de estas lipoproteínas en el hígado (31).

### 1.1.5 Leptina

Es una hormona también producida por el tejido adiposo que consta de 167 aminoácidos cuyo aislamiento se logró a mitad de la década de los noventa. Contrario a la adiponectina, la leptina aumenta sus niveles proporcionalmente a la masa de tejido graso del organismo, es decir, al contenido de triglicéridos dentro del adipocito. Al igual que adiponectina, aún no está claro el mecanismo de tránsito intracelular para secretar esta hormona (32).

Las mutaciones en el alelo autosómico recesivo de la obesidad (*ob*), que codifica la leptina, producen fenotipos de obesidad, hiperfagia, diabetes mellitus e hipogonadismo tanto en modelos murinos como en humanos, llevando a un estado de bajo gasto energético e hiperinsulinemia (33).

En estudios *in vitro* se ha demostrado que la leptina aumenta la hidrólisis de los triglicéridos y la oxidación de los ácidos grasos, es una hormona inhibidora de la lipogénesis. Además, por medio de la activación del sistema nervioso simpático también aumenta la lipólisis tanto en el tejido adiposo pardo como blanco. El receptor de leptina (LEPR), es un receptor de la familia de las citoquinas que activa la vía de las Janus-Kinasas 2 (JAK2), presente en la mayoría de tejidos del organismo incluyendo el mismo adipocito (33–35).

En el adipocito la leptina inhibe la lipogénesis y promueve la lipólisis, aumentando la hidrólisis de triglicéridos y la oxidación de ácidos grasos. Este efecto es mediado autocrina y paracrínamente por medio del receptor LEPR, pero también interviene la estimulación del sistema simpático (34,35).

En el hígado la leptina aumenta la beta oxidación de los ácidos grasos impidiendo la lipogénesis. Al igual que la adiponectina, inactiva la vía de la lipogénesis al fosforilar (desactivando) la enzima *Acetil CoA Carboxilasa* (ACC), disminuyendo el riesgo de lipotoxicidad hepática (36,37).

En el músculo por medio de la vía AMPK inhibe el acúmulo y la formación de triglicéridos previniendo la lipotoxicidad. Incluso llega a disminuir la efectividad de la lipogénesis causada por la insulina hasta en un 50% (38,39).

En modelos murinos Ob/Ob se ha demostrado que la administración de leptina disminuye la actividad de la LPL del tejido adiposo. Un efecto mediado al parecer por la disminución concomitante de niveles de insulina, causando una disminución en la acumulación de grasa en paciente con bajo gasto energético y obesidad (el fenotipo causado por la mutación Ob/Ob). En los modelos sin la mutación no hubo efecto significativo (40). La lipasa hepática parece aumentar su actividad en estados de deficiencia y resistencia a la leptina, causando el aumento del acúmulo de lípidos en el hepatocito. En estos modelos aumenta también los niveles de VLDL en plasma(41).

La leptina indica el estado energético del organismo. Por medio de sus receptores localizados en casi todos los tejidos incluyendo el sistema nervioso central, proporciona información acerca de la cantidad de triglicéridos acumulados y si el organismo debe entonces promover el gasto o no de estos. De esta manera, al haber un aumento de la masa del tejido graso, se promueve la saciedad por medio de vías hipotalámicas y el gasto energético por vías hormonales (TRH) y del sistema nervioso simpático. Lo contrario ocurre en el ayuno o la restricción calórica, en este caso el metabolismo se inclina hacia la conservación de energía, debido a los bajos niveles de leptina. Los pacientes obesos, a pesar de tener niveles circulantes de leptina incrementados, muestran un bajo gasto energético debido a la resistencia a la hormona y a los bajos niveles de adiponectina. Esto impide un adecuado gasto energético y la acumulación de grasas en tejidos ectópicos llevando a lipotoxicidad y alteración de vías intracelulares como la de la insulina (42).

## **1.2 Metabolismo energético de la gestación**

La gestación trae consigo varios cambios en el metabolismo de carbohidratos y lípidos encaminados a promover un adecuado desarrollo y crecimiento del feto. Durante los primeros dos trimestres de la gestación se considera que ocurre una fase anabólica en la cual la madre aumenta el tejido adiposo y en la gestación tardía los cambios hormonales llevan a un estado de resistencia a la insulina con el fin de proporcionar nutrientes para el crecimiento fetal y la preparación para el parto y la lactancia.

### **1.2.1 Fase anabólica de la gestación**

Durante el primer trimestre de la gestación parece haber un aumento en la sensibilidad a la insulina. Estudios en modelos murinos en el día 7 que corresponde al primer trimestre, muestran aumento del 100% de la producción de ácidos grasos a partir de glucosa en los adipocitos de la región lumbar (43). En humanos, Catalano y su grupo, caracterizaron la respuesta de la insulina y la resistencia a la insulina en 6 gestantes no obesas en quienes se tomaron muestras previo al embarazo en fase folicular, a las 12-14 semanas y a las 34-36 semanas de gestación, realizándoles pruebas de tolerancia a glucosa oral e intravenosa. En la prueba intravenosa fueron realizadas las mediciones de la respuesta de la insulina a la carga intravenosa de glucosa tomando como primera fase de 0 a 5 min y como segunda fase de 5 a 60 minutos y se realizó un clamp hiperinsulinémico euglicémico para estimar la sensibilidad a la insulina (se infunde insulina y glucosa intravenosa con el objetivo de mantener la glicemia en 90 mg/dL, tomando esta infusión de glucosa para estimar la sensibilidad periférica de insulina). En este estudio se observó un aumento en la primera fase de secreción de insulina tanto a las 12 (120%) como a las 34 semanas de gestación en comparación con no gestación, y aumento de la segunda fase también en las 34 semanas, pero no las 12. La sensibilidad a la insulina disminuyó un 39% a las 12 semanas y un 61% a las 34 semanas comparado con la fase folicular no gestante (44). En otro estudio el mismo Catalano muestra que la concentración basal de insulina, en ayunas, a las 12 semanas es incluso un 20% menor que la que se mide previo a la gestación, pero en las 34 semanas si es significativamente mayor. La producción basal de glucosa no tuvo diferencias entre previo a la gestación y las 12 semanas, pero aumenta significativamente a las 34 semanas (45). En un estudio

realizado en 65 gestantes con Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1), en el que se describen los patrones de dosis de insulina y control glucémico, se observa un incremento en la resistencia a la insulina en la gestación temprano hacia la semana 9, seguido por una disminución del requerimiento de insulina en la semana 14 a 16 y posteriormente el esperado aumento en la resistencia a la insulina en el segundo trimestre tardío y el tercer trimestre (46).

En estos estudios se observa un aumento en la sensibilidad a la insulina en el primer trimestre del embarazo representado por mayor requerimiento de infusión de glucosa en los estudios de clamps hiperinsulinémicos-euglicémicos y menor requerimiento de dosis de insulina en las gestantes con DM1, aún no es clara la razón del aumento de la sensibilidad a la insulina en este periodo. Este aumento de la sensibilidad a la insulina promueve la fase anabólica que se describe en la gestación temprana.

El aumento en la sensibilidad a la insulina que estimula la síntesis de ácidos grasos, sumado a la hiperfagia de las gestantes promueven el aumento de la masa del tejido adiposo (47). Durante este periodo la actividad de la LPL en el tejido adiposo se mantiene igual o incluso puede aumentar, promoviendo así la hidrólisis de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, generando sustrato para la lipogénesis de la fase anabólica (48).

### **1.2.2 Fase catabólica de la gestación**

Especialmente en el tercer trimestre de la gestación, hay una resistencia importante a la insulina con el objetivo de proveer al feto su principal fuente de energía, la glucosa. En los modelos murinos se evidencia que el aumento a la sensibilidad de la insulina que ocurre en la gestación temprana, se normaliza hacia el día 14 de gestación y que en el tercer trimestre hay una marcada resistencia a la insulina, hasta de un 50% (43). Los estudios de Catalano soportan esta observación como se mencionó previamente al igual que el incremento del requerimiento de insulina de las gestantes con DM1.

Por otro lado, la Lipasa Sensible a Hormonas (LSH), localizada en el adipocito, aumenta su expresión en esta etapa, promoviendo la hidrólisis de triglicéridos acumulados en el

tejido adiposo los cuales se liberan en la circulación (49) y la actividad de la LPL en el tejido adiposo disminuye, tanto en modelos murinos como en humanos durante el tercer trimestre de la gestación (48,50). Estos cambios en el metabolismo lipídico promueven el aporte de energía durante el tercer trimestre para un adecuado crecimiento fetal.

La resistencia a la insulina es fundamental en el cambio metabólico que ocurre en el tercer trimestre debido a que se disminuye la síntesis de ácidos grasos, disminuye la actividad de la LPL y aumenta la lipólisis dentro del adipocito. La placenta es la principal responsable del estado de insulinoresistencia. El lactógeno placentario, la hormona de crecimiento placentaria humana (hPGH), el cortisol y los estrógenos que aumentan sus concentraciones conforme avanza la gestación son la causa fundamental de la resistencia a la insulina que se presenta especialmente durante el tercer trimestre del embarazo (51).

### **1.2.3 Leptina, adiponectina y gestación**

La leptina es producida por el tejido adiposo como se mencionó previamente, pero también puede ser producida por la placenta, por lo que sus niveles durante la gestación van aumentando paulatinamente con un pico al comienzo del tercer trimestre y un descenso abrupto en el posparto (52). La hiperleptinemia gestacional, necesaria ya que la leptina tiene múltiples funciones para un buen funcionamiento placentario, lleva a un estado de resistencia central a la leptina en la gestación normal, al parecer por disminución de la concentración de los receptores. También, promueve un estado proinflamatorio aumentando la producción de citoquinas como TNF alfa y IL-6, ayudando a la resistencia a la insulina (53).

La adiponectina sérica por su parte, aumenta un poco sus concentraciones durante las primeras semanas de la gestación normal, teniendo un pico en la semana 14 y disminuyendo posteriormente hasta presentar un nadir en la gestación tardía (54). En modelos animales que no expresan adiponectina, hay un aumento marcado del tamaño fetal el cual es controlado al administrarse esta hormona, mejorando así también la resistencia a la insulina (55). En gestantes con sobrepeso los niveles de adiponectina disminuyen más que en gestantes sanas produciendo un estado de mayor resistencia a

la insulina(56). Los cambios en las concentraciones de adiponectina durante el embarazo, dado el efecto sensibilizador a la insulina y de prevención de acumulación ectópica de lípidos descrito previamente, ayudan a explicar la resistencia a la insulina demostrada en el tercer trimestre de la gestación.

### **1.2.4 Perfil lipídico durante la gestación**

Desde la concepción hasta el parto, los niveles plasmáticos de todas las lipoproteínas aumentan progresivamente. En 1994 se publicaron datos de 178 gestantes sanas comparadas con 58 mujeres sanas no gestantes. Las muestras se tomaron en segundo y tercer trimestre de gestación y se evidenció un aumento significativo de Colesterol total, Triglicéridos, C-LDL, Apo-B, C-HDL y Apo-A1 en las gestantes en comparación con las no gestantes (57).

En 1997, se estudiaron 10 gestantes sanas desde la semana 10 de gestación en intervalos de 5 semanas hasta la semana 35. A medida que avanzó la gestación el C-LDL, C-VLDL, C-IDL y los triglicéridos aumentaron hasta 5 veces. Los triglicéridos aumentaron mucho más en las últimas semanas de gestación. El estradiol se correlacionó con el aumento de C-VLDL (58).

Desoye et al, en 1987, tomaron 24 mujeres no gestantes como controles y 42 gestantes durante el embarazo y el posparto, eran sanas con pruebas de tolerancia oral a la glucosa normales. El colesterol total, el colesterol libre, los fosfolípidos y los triglicéridos aumentaron constantemente a lo largo de la gestación. Siendo el incremento más marcado el de los fosfolípidos, que aumentaron hasta en un 300%. Los niveles de Apo-A1, A2 y B también se comportaron de una manera similar. Los niveles de C-LDL se doblaron durante la gestación y en el posparto aun eran 50% mayores que los de los controles no gestantes. Los niveles de C-HDL 2C y 3C también aumentaron a lo largo de la gestación, teniendo en cuenta que los niveles en la gestación temprana ya eran mayores que los de las no gestantes. Los niveles de colesterol total, colesterol libre, fosfolípidos y triglicéridos tuvieron correlación directa con estradiol, progesterona y lactógeno placentario (59).

Wisnitzer y su grupo analizaron una base de datos de todos los partos desde el 2000 al 2006 en Boston. En este caso se tomaron los datos de perfiles lipídicos preconceptionales, durante la gestación y posteriores al parto, teniendo en cuenta que no todas las pacientes tenían todos los perfiles lipídicos. Se tomaron aproximadamente 9000 pacientes. Las mujeres eran jóvenes, sanas y sin comorbilidades cardiovasculares. En este estudio se observó una disminución leve casi inmediatamente posterior a la concepción de los niveles de las lipoproteínas importantes con un aumento estable posterior y a lo largo del embarazo que hizo pico previo al parto. Los niveles de triglicéridos se asociaron a complicaciones como la preeclampsia y la diabetes mellitus gestacional (60).

En resumen, al final de la gestación los niveles de colesterol total habrán aumentado hasta en un 50% y los niveles plasmáticos de triglicéridos podrán llegar a ser el doble de los basales. La relación entre el colesterol aterogénico (C-HDL) y el no aterogénico (C-HDL) no deberá cambiar en una gestación sana, siendo esto una característica de un metabolismo gestacional sano, ya que, así como el C-LDL aumenta, el C-HDL también lo hace, teniendo ambas lipoproteínas un mayor contenido de triglicéridos con respecto a cuando no hay gestación.

La hipertrigliceridemia que ocurre en la gestación es causada tanto por el aumento en la producción de lipoproteínas ricas en triglicéridos como por la disminución en la degradación de estas. En el primer y segundo trimestre la hiperfagia causada por la progesterona aumenta el sustrato para la producción de QM en el enterocito. El incremento de los estrógenos durante el segundo y tercer trimestre promueve la formación de VLDL en el hígado, así como la lipogénesis hepática y disminuye la actividad de Lipasa Hepática generando que las lipoproteínas como el C-LDL y C-HDL sean ricas en triglicéridos aumentando la concentración plasmática de estos. Finalmente, el lactógeno placentario aumenta la lipólisis en el adipocito y es una de las principales causas de la resistencia a la insulina del tercer trimestre de la gestación, que conlleva a la disminución de la actividad de la LPL del tejido periférico, especialmente en el adipocito ya que hacia el final de la gestación la actividad de la LPL en placenta y glándula mamaria está incrementada. El mismo lactógeno placentario aumenta la actividad de la PTEC, causando una disminución de la hidrólisis de los triglicéridos de QM y VLDL y promoviendo el aumento del paso de estos triglicéridos al C-HDL. Esto

produce lipoproteínas ricas en triglicéridos que al no ser degradadas por la Lipasa Hepática (su actividad está disminuida por la acción de los estrógenos) causan el incremento de los triglicéridos en plasma descritos previamente (48,61–64). El aumento de triglicéridos circulantes proporciona sustrato para la producción de leche en la glándula mamaria preparándose para la lactancia, sustrato para la producción de cuerpos cetónicos en el hepatocito materno como fuente de energía en caso de ser necesario y proporciona ácidos grasos libres por medio de la LPL placentaria para ser transportados a la circulación fetal (65).

Debido a los efectos de los estrógenos y al aumento del sustrato para formar VLDL en el hígado, Apo-B también aumenta durante la gestación, por lo que consecuentemente aumentan las concentraciones plasmáticas de C-VLDL, C-LDL y C-IDL. Esto proporciona también esteres de colesterol y colesterol al feto, endocitados en la placenta que también expresa LDL-R y LRP y pueden endocitar las lipoproteínas, similar a lo que ocurre en el hígado (66).

El C-HDL es la lipoproteína con niveles más estables durante la gestación, sin embargo, se presenta un leve incremento a lo largo de esta, con un aumento mayor hacia la mitad de la gestación causado por los estrógenos que aumentan la producción de HDL y tiene a hacer un plateau o incluso disminuir un poco a finales de la gestación debido a la resistencia a la insulina. A pesar de esto, la relación LDL/HDL se mantiene protegiendo a la gestante de la aterogénesis en una gestación normal (67). La placenta también tiene receptor SR-B1 que puede recibir el colesterol del C-HDL para ser entregado en la circulación fetal (66).

### **1.2.5 Perfil lipídico y preeclampsia**

En 1996 los niveles de colesterol y triglicéridos fueron medidos en los tres trimestres de la gestación en una cohorte de 115 mujeres con hipertensión durante el embarazo y en 115 gestantes sanas usadas como controles. Se demostró que las gestantes con hipertensión gestacional severa y preeclampsia tenían niveles elevados de triglicéridos en comparación con gestantes con hipertensión gestacional leve e hipertensión crónica y

que estas diferencias se observan desde el primer trimestre de la gestación, en este caso la semana 10 que fue cuando se tomó la muestra (68).

Una cohorte prospectiva estudió de 57 gestantes con preeclampsia y 510 controles sanos a quienes se les recolectó una muestra de sangre en la semana 13 de gestación y se midieron las lipoproteínas plasmáticas. Las gestantes preeclámpticas tenían mayores niveles de C-LDL, triglicéridos y mayor relación C-LDL/C-HDL que los controles (10.4%,13.6% y 15.5%) asociado a un C-HDL 7% más bajo. Se calculó que las gestantes con triglicéridos mayores de 133 mg/dL en ese momento tenían un riesgo de 4.15 veces de presentar preeclampsia comparado con valores menores y que si el colesterol era mayor a 205 mg/dL el riesgo era de aproximadamente 3 veces (en el modelo ajustado) (69).

En el 2014, se publicó una revisión sistemática de la literatura con metaanálisis de 74 estudios clínicos que evidenció que el colesterol total es mayor en los primeros dos trimestres en las mujeres que desarrollan preeclampsia comparado con las normotensas en un promedio de 12.49 mg/dL. En el tercer trimestre las mujeres con preeclampsia mostraron un C-HDL 8.86 mg/dL más bajo que las normotensas, y el C-LDL y en no C-HDL eran significativamente mayores durante los tres trimestres. Los niveles de triglicéridos fueron marcadamente mayores en las gestantes preeclámpticas, en promedio 80.29 mg/dL más (70). Estos estudios evidencian la relación que hay entre las concentraciones plasmáticas de lípidos, en especial de triglicéridos con el riesgo de desarrollar enfermedades hipertensivas en la gestación.

Los niveles patológicamente elevados de triglicéridos y ácidos grasos libres son el cambio más importante comparando gestantes preeclámpticas con gestantes normotensas, sin embargo, como se describió previamente, hay algunos otros cambios en el metabolismo lipídico como la disminución del C-HDL. Después del segundo trimestre de la gestación y en pacientes con metabolismo lipídico anormal se presenta algo similar al síndrome de resistencia a la insulina. Esto produce una resistencia aún más marcada a la insulina, niveles más bajos de C-HDL y más altos de triglicéridos, así como aumento de la subfracción de C-LDL pequeña y densa, que es la más aterogénica. El aumento de las concentraciones de estos lípidos, así como el aumento de la oxidación de las mismas causa disfunción endotelial que puede provocar una alteración en la

invasión del trofoblasto y una formación anormal de la placenta por medio del aumento del estrés oxidativo, la disminución de la producción del óxido nítrico, el aumento de las citoquinas proinflamatorias, entre otras. Además, la disminución de los niveles de C-HDL, causa un mal balance entre la producción de prostaciclina y tromboxanos, disminuyendo la producción de los primeros causando un estado pro agregante. Todo esto podría explicar la relación del metabolismo lípido con los trastornos hipertensivos del embarazo por medio de la disfunción endotelial (71–76).

### 1.3 Lipoproteín Lipasa (LPL)

Se sabe desde 1943 de una enzima que es activada por la heparina y que disminuye la cantidad de lípidos plasmáticos después de la ingesta de una comida con grasa, conocida actualmente como LPL (77). La LPL cumple un rol central en el metabolismo lipídico y se expresa en múltiples tejidos como músculo esquelético, músculo cardiaco, hígado, tejido adiposo, mama, placenta, riñón, páncreas, adrenales, entre otros (78).

El gen de la LPL se encuentra localizado en el cromosoma 8 y está compuesto por diez exones que codifican para 448 aminoácidos los cuales conforman un monómero que en el dominio amino terminal tiene los residuos catalíticos que realizan la hidrólisis y una hélice que cubre estos aminoácidos y que sirve para unirse al lípido que va a ser hidrolizado. La región carboxi terminal contiene el sitio de unión con la lipoproteína. La LPL es activa cuando está en forma de homodímero, es decir cuando dos LPL se encuentran unidas, de lo contrario la actividad hidrolítica es muy baja. Como se mencionó previamente, la principal función de la LPL es hidrolizar los triglicéridos de los QM y el C-VLDL, liberando ácidos grasos libres y formando C-IDL y remanentes de QM (79).

Después de ser sintetizada en el retículo endoplásmico rugoso (RER), se une a una proteína (LMF1) que se encuentra anclada al RER y que junto con otras proteínas chaperonas ayudan a que la LPL adopte su estructura terciaria y las organizan en forma

de homodímeros para potenciar su actividad (80). La proteína Sel1L le brinda estabilidad al complejo LMF1-LPL, uniéndose a éste y permitiendo que sea liberado del RER (81). Los homodímeros dejan el RER para ir al aparato de Golgi, donde con ayuda de SorLA puede transportarse a la red Trans-Golgi tardía y de ahí a endosomas tardíos o pueden ser secretados por vía constitutiva (82,83).

Cuando los homodímeros de LPL se encuentran fuera de la célula, se unen a receptores de proteoglucanos, *heparan sulfate proteoglycans* (HSPG), localizados en la membrana de estas células (84). El heparan sulfato presente en estos receptores mantiene activa la LPL y es en este lugar donde GP1HBP1 (*glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1*), una proteína unida a la superficie basolateral de las células endoteliales se une a la LPL activa y la transporta desde la matriz extracelular a la luz endotelial donde le da estabilidad a los residuos catalíticos de la enzima para realizar la hidrólisis de los triglicéridos, con ayuda del cofactor activador Apo-CII(85). El catabolismo de la LPL se da por clivación del residuo 297 por acción de proteasas (86).

### 1.3.1 Regulación de la LPL

La LPL tiene múltiples mecanismos de regulación los cuales intervienen principalmente en la actividad de la enzima a un nivel pos transcripcional, lo que parece explicar en mayor medida las variaciones fisiológicas de la LPL (87).

Varias apolipoproteínas de la familia Apo-C interactúan con la LPL. Apo-CII se ha llegado a considerar como el principal activador de LPL en el plasma. Meyers plantea que esto tiene que ver con el aumento de presión de la superficie de la lipoproteína una vez que la LPL va hidrolizando los triglicéridos, lo que permite que la hélice terminal de Apo-CII interactúe con LPL, activándola (88). Apo-CI inhibe la actividad lipolítica de la LPL, evitando que se una a las gotas de lípido, esta puede ser secretada por el tejido adiposo blanco en pacientes obesos (89). Apo-CIII, localizada en QM y VLDL, es un inhibidor de la LPL al desplazarla de su unión con el cofactor Apo-CII. Medicamentos como los fibratos actúan en parte inhibiendo Apo-C3 (90). Apo-A5 es una apolipoproteína que está

presente especialmente en VLDL y C-HDL. Tiene un efecto activador de la LPL al parecer activándola directamente al unirse a los proteoglicanos de heparan sulfato estabilizando la unión de la C-HDL con LPL (91).

Por otra parte, existe una familia de proteínas similares a la angiopoietina, *Angiopoietin-like Proteins* (ANGPTL), que también regulan la actividad de la LPL inhibiéndola potentemente, en especial ANGPTL3, ANGPTL4 y ANGPTL8.

ANGPTL4 es una proteína producida por hepatocitos, miocitos, cardiomiocitos, adipocitos, enterocitos, células epiteliales y macrófagos. Esta se encarga de prevenir la dimerización, inactivar el complejo con GPIHBP1-LPL y aumentar la degradación intracelular de la LPL, sin embargo, otro estudio indica que podría actuar como inhibidor competitivo de la LPL previniendo la hidrólisis del sustrato. Su producción está bajo el control de los genes PPAR alfa en hepatocitos y gamma en miocitos, cardiomiocitos y macrófagos, por lo que aumenta cuando hay disponibilidad de ácidos grasos (92,93). Principalmente regula la actividad de la LPL en condiciones de frío, ejercicio y ayuno, inhibiendo la actividad de la LPL en el tejido adiposo blanco para privilegiar los tejidos oxidativos como el músculo y el tejido adiposo pardo (94).

ANGPTL3 es producida exclusivamente en el hígado y contrario a la ANGPTL4, funciona de manera endocrina. La región N-terminal se une de manera irreversible al sitio catalítico de la LPL inhibiendo la actividad hidrolítica y promoviendo la degradación de la LPL por parte de las proproteín convertasas (95).

ANGPTL8 fue la más recientemente descrita, en humanos la expresión parece ser exclusiva de tejido hepático, aunque en modelos animales se expresa también en tejido adiposo. Inhibe la LPL de manera directa o indirecta a través de la clivación del extremo N-terminal de ANGPTL3 que tiene mayor actividad inhibitoria de la LPL (94,96).

### **1.3.2 LPL en tejido adiposo y muscular**

En el tejido adiposo la regulación de expresión se da por varios mecanismos. En estado de ayuno el mRNA de la LPL disminuye, puede que por medio de la disminución de la

expresión de PPAR gamma, el cual se expresa en presencia de lípidos y es un regulador positivo importante de la expresión de la LPL (97,98). Por otra parte, la insulina, los corticoides y el PPAR gamma, que interviene en la adipogénesis, promueven la expresión de mRNA de LPL (99,100).

Sin embargo, los efectos reguladores más importantes se dan de manera postranscripcional. Olivecrona y colaboradores describieron que la LPL se inactiva extracelularmente en ayunas por acción de la ANGPTL4 (101,102). Mientras que la insulina, además de disminuir la expresión de la enzima también activa la LPL y ayuda a liberarla del adipocito para que cumpla la función en el endotelio, al parecer mediante la inhibición de los niveles de ANGPTL4 (103,104).

Contrario a lo que ocurre en el adipocito, en el músculo esquelético el ayuno aumenta tanto la actividad como la expresión de la LPL y la exposición a insulina disminuye la actividad (99,105,106). La ANGPTL4 también aumenta su expresión en tejido muscular en ayuno, lo que podría contrarrestar los efectos activadores que el ayuno produce (107). Durante el ejercicio aumenta la expresión y actividad de la LPL por el estímulo de las catecolaminas en los músculos que están siendo ejercitados, sin embargo en el músculo que no se ejercita se incrementa la expresión de ANGPTL4, al parecer previniendo la lipotoxicidad en el músculo que no requiere ácidos grasos para producir energía (108–110).

Los estrógenos y la prolactina también influyen en la actividad de la LPL en distintos tejidos. En un estudio en el que se expusieron mujeres premenopáusicas no gestantes a parches de estradiol y a otras a parches con placebo y se realizaron biopsias de tejido adiposo bajo el parche, se midió actividad de LPL. El tejido debajo de los parches con estradiol tenía una actividad de la LPL mucho menor que los controles, sin diferencias en los niveles de mRNA lo que lleva a pensar que son cambios postranscripcionales inducidos por los estrógenos que disminuyen la actividad de la LPL y esto podría explicar la redistribución de la grasa corporal (111). La prolactina por su parte parece aumentar en modelos animales la actividad de LPL en glándula mamaria y disminuirla en tejido adiposo, en especial en gestación tardía y posparto (112–114).

## 1.4 LPL y gestación

Como se mencionó previamente, durante la gestación el metabolismo se adapta en función de suplir de sustrato energético al feto, dividiéndose a grandes rasgos en una etapa anabólica en el primer trimestre y una etapa netamente catabólica especialmente durante el último trimestre caracterizada por la resistencia a la insulina. De la misma manera la LPL se adapta a los requerimientos de la madre y el feto durante esta etapa.

Estudios en modelos murinos habían mostrado disminución de la actividad de la LPL al término de la gestación pero discrepancia con respecto a lo que sucede en la mitad del periodo gestacional(115,116). Knopp y colaboradores midieron la actividad lipolítica de la LPL pos heparina, teniendo en cuenta el aumento del volumen plasmático en la gestante y se observó que esta actividad aumentaba con respecto a los controles hacia el día 12 de la gestación, que equivale a la mitad de la gestación, volvía a valores normales hacia el día 19 y mostraba una disminución del 50% de la actividad en el día 21 en la gestación tardía, evidenciando en la mayoría del tiempo de gestación una actividad normal o alta de la LPL y solo disminuyendo marcadamente llegando a término. Hay que tener en cuenta que se midió la actividad en plasma de la enzima sin especificar qué tipo de tejido la está expresando, los autores plantean la hipótesis de que más de la mitad la aporta el tejido adiposo (117). Herrera y colaboradores reportaron en modelos murinos el aumento de peso y tejido adiposo de la rata gestante hasta el día 19 en el cual esto se detiene. La actividad de la LPL del tejido adiposo disminuye hacia la gestación tardía, día 21, lo que condiciona al aumento de los ácidos grasos libres y triglicéridos en el plasma materno, así como la disminución de la masa adipocitaria y aumento del sustrato para producción de C-VLDL. Al determinar por tejidos específicos la actividad de la LPL en ratas no gestantes la mayor actividad se encontró en el tejido adiposo y la menor en el hepático. Durante la etapa final de la gestación se observó disminución de la actividad de la LPL en hígado, corazón y tejido adiposo con un aumento marcado en la placenta y la glándula mamaria en el día 20 y 21, de esta manera priorizando el sustrato para el feto e inhibiendo la acumulación lipídica ectópica (118).

El mismo Herrera y su grupo confirmaron sus hallazgos en 12 gestantes sanas midiendo la actividad plasmática de la LPL pos-heparina la cual disminuye de manera importante

hacia el final de la gestación, demostrando la disminución de la capacidad lipolítica de los tejidos maternos en esta etapa (118). Rebuffé-scrive y su equipo, investigaron la lipólisis y la actividad de la LPL en adipocitos de la región femoral y abdominal durante las fases del ciclo menstrual, la gestación y la lactancia. Tomaron 12 mujeres no gestantes como controles, 13 gestantes en primer trimestre (8-11 semanas) y 9 mujeres en periodo de lactancia de 1 mes posparto. Se hizo biopsia con aguja de tejido adiposo femoral y abdominal. La medición de la actividad de la LPL se realizó de acuerdo a la descripción de Nilsson Ehle et al (119), y se observó que la actividad de la LPL en el tejido adiposo femoral estaba significativamente aumentada en comparación con los controles y las mujeres en lactancia. En el tejido adiposo abdominal no se observaron diferencias. En las lactantes la actividad de la LPL estaba aumentada en la glándula mamaria y disminuida en tejido adiposo y femoral, comparado con el grupo control (120). Otro estudio longitudinal tomó 25 gestantes sanas durante los tres trimestres de la gestación y posparto, de las cuales 11 también fueron estudiadas mientras lactaban y mostró que la LPL disminuye su actividad, pero solo en el tercer trimestre mientras que la lipasa hepática la disminuye constantemente en todos los trimestres, comparado con posparto y pos-lactancia. Se evidenció una correlación negativa significativa importante entre los niveles de estradiol, progesterona y prolactina con la actividad de la lipasa hepática y con la actividad de la LPL, aunque mucho menor en la segunda. Este estudio tampoco distingue el origen el tejido donde actúa la LPL sino solo menciona la actividad plasmática general (121).

Durante la gestación el aumento de lipoproteínas ricas en triglicéridos tiene dos fuentes importantes, la primera es el aumento de la producción y la segunda la disminución de la lipólisis en tejidos extrahepáticos. La LPL influye en la segunda, y según lo expuesto es hasta el tercer trimestre de la gestación que la actividad de esta disminuye de una manera importante globalmente, pero distribuyéndose de acuerdo con el tejido, aumentando la actividad de la LPL en placenta y glándula mamaria y disminuyendo en el resto de los tejidos, favoreciendo el sustrato energético del feto y la producción de leche para la lactancia.

## 1.5 *Angiopoietin-Like 3 (ANGPTL3)*

Desde comienzos de este siglo ha tomado importancia la subfamilia de proteínas ANGPTL en la regulación de los niveles de lípidos plasmáticos, especialmente en el metabolismo de los triglicéridos (122). ANGPTL-3 es una proteína expresada exclusivamente en el tejido hepático, por lo que se considera una hepatokina, que pesa 70kDa después de las modificaciones pos-transcripcionales. Al igual que todas las proteínas hermanas miembros de la subfamilia de las ANGPTL, excepto por la 8 su estructura consta de (123):

- Péptido señal en el extremo N-terminal
- Dominio tipo bobina en espiral en el extremo N-terminal
- Región enlazadora
- Dominio similar al fibrinógeno en el extremo C-terminal

ANGPTL-3 sufre un clivaje producido por las proconvertasas hepáticas (Furina o PCSK3 intracelular y PACE o PCSK6 extracelular) a nivel de la región enlazadora, lo que produce que la proteína se divida en una fracción N-terminal, que contiene el dominio tipo bobina en espiral y una fracción C-terminal, que contiene el dominio similar al fibrinógeno. (124). Además, puede ser glicosilada en una región cercana al punto de clivaje lo que, in vitro, puede impedir la acción de las proconvertasas (125).

### 1.5.1 **Expresión de ANGPTL-3**

LXR regula la expresión de ANGPTL-3 en el hepatocito. El promotor del gen de ANGPTL-3 tiene elementos de respuesta a LXR y en modelos murinos se ha demostrado que una dieta alta en colesterol induce la expresión de ANGPTL-3 por medio de LXR, lo cual no se observa en los ratones que tienen una mutación de pérdida de función o no tienen el gen de ANGPTL-3. Esto puede explicar el aumento de triglicéridos circulantes en dietas ricas en grasas (126,127).

En ratones hipotiroideos a quienes se les administró hormona tiroidea, se evidenció una reducción de la expresión de ANGPTL-3 hasta de 70%, al parecer mediado por HNF-1

alfa, aunque los dominios de expresión de LXR se encontraban cerca de esta región (128).

La insulina y la leptina se consideran inhibidores no solo de la expresión de la ANGPTL-3, sino también de sus concentraciones plasmáticas. Shimamura y colaboradores en el 2004, demostraron que los niveles plasmáticos de ANGPTL-3 estaban elevados en los ratones que tenían resistencia o eran deficientes de leptina y presentaban el fenotipo de hiperlipidemia esperado el cual mejoraba al ser tratados con leptina. Así mismo, en los modelos deficientes de insulina y tratados con estreptozocina, para inducir un estado de diabetes mellitus, aumentó tanto la expresión como la secreción de ANGPTL-3 (129). En un estudio en humanos en los que se incluyeron pacientes obesos, obesos y diabéticos y además pacientes con anorexia nerviosa, se evidenció que los niveles de ANGPTL-3 eran menores en los pacientes obesos y obesos con DM2 y estaban incrementados en los pacientes con anorexia nerviosa. Esto podría estar en relación con la hiperinsulinemia que puede presentar el paciente obeso o el paciente obeso con DM2 que podría inhibir la expresión de ANGPTL-3. Este es el único estudio que ha evidenciado una relación del estado nutricional con la concentración plasmática de ANGPTL-3, la cual disminuyó marcadamente durante el ayuno. Estos niveles no habían alterado en los modelos animales durante ayuno o pos-prandial (130).

Haridas en el 2015, publicó un estudio hecho con muestras de tejido adiposo y hepático humano, en pacientes que fueron llevados a cirugía de bypass por laparoscopia, y a quienes también se les tomaron muestras de sangre. En este estudio se buscaba determinar el efecto de la insulina en la expresión hepática y adiposa de ANGPTL, determinar las variaciones plasmáticas de las concentraciones de ANGPTL en respuesta a una infusión de insulina y la respuesta en la expresión génica en los tejidos mencionados. Solo se detectó expresión de ANGPTL-3 en el hígado, mientras que ANGPTL-8 y ANGPTL-4 se detectaron en ambos tejidos. Las concentraciones medidas por ELISA de ANGPTL3 y ANGPTL-8 disminuyeron de manera importante con la infusión de insulina. ANGPTL-3 disminuyó 26% y 28% a las 3 y 6 horas. ANGPTL-8 también disminuyó con ELISA pero no con *western blot*. Plantean que el descenso en las concentraciones de ANGPTL-3 podría ser explicado por el hecho de que, en el cultivo *in vitro* de células hepáticas, al adicionar insulina la expresión génica de ANGPTL-3 disminuyó 3 veces. En respuesta a la insulina, la expresión de ANGPTL-8 aumento de

manera importante en célula hepática y tejido adiposo, sin embargo, no se elevaron las concentraciones plasmáticas durante el *clamp*, quedándose intracelular. Plantean también la hipótesis de que ANGPTL- 8 necesita a ANGPTL-3 para poder salir de la célula (131).

### **1.5.2 Efectos de ANGPTL-3**

Se demostró en modelos animales que el extremo N-terminal de la proteína, en especial el dominio tipo bobina en espiral, es el responsable del aumento de los triglicéridos en plasma. Este dominio es el que realiza el efecto clivador sobre la LPL para disminuir su actividad hidrolítica (132). In vitro, ANGPTL-3 se une reversiblemente a la LPL, disminuyendo la actividad catalítica de la enzima, proceso que puede ser inhibido por la heparina (133). Además de inhibir la LPL, ANGPTL-3 también inhibe la Lipasa Endotelial que es afín por los fosfolípidos, razón por la cual niveles bajos de ANGPTL-3 podría disminuir los niveles de c-HDL (134).

### **1.5.3 ANGPTL-3 y ANGPTL-8**

Varios estudios han llevado a la propuesta de que la ANGPTL-3 no actúa sola, sino que su actividad inhibitoria de la LPL se potencia al máximo cuando se expresa en conjunto con ANGPTL-8. En algunos estudios, ANGPTL-3 es incapaz de inhibir la LPL si no se expresa en conjunto con ANGPTL-8 (135,136). Se plantea el modelo en el que ANGPTL- 8 no tiene una capacidad inhibitoria directa de la LPL por sí misma, sin embargo si tiene la capacidad de unirse y al parecer formar un complejo con ANGPTL-3 que produzca este efecto, aunque también se plantea la opción de que la clave liberando su extremo N-terminal el cual es el activo(135–137).

### **1.5.4 Modelo ANGPTL-3, 4 y 8**

Considerando la importancia y características descritas de estas proteínas, se ha considerado que la acción conjunta de las tres en diferentes momentos y estados metabólicos controlan el metabolismo de los triglicéridos al regular la actividad de la LPL. El modelo sugiere que ANGPTL-3 es producida por el hígado de manera constante, sin tener los niveles alterados por el ayuno o la ingesta de alimentos. Durante el ayuno o el ejercicio físico, ANGPTL-4 alcanza valores máximos, mientras que ANGPTL-8 no se produce. De esta manera la LPL del tejido adiposo blanco es inhibida irreversiblemente por ANGPTL-4 quedando activas las LPL de los tejidos oxidativos como el músculo cardíaco y el músculo esquelético. En el momento de ingerir alimentos sucede lo contrario, ANGPTL-8 aumenta a sus niveles máximos y se suprime la producción de ANGPTL-4. ANGPTL-8 se une entonces a ANGPTL-3, cuyos niveles en plasma se han mantenido estables, pero que al unirse con ANGPTL-8 tiene un aumento marcado de la actividad inhibitoria sobre la LPL de los tejidos oxidativos, favoreciendo la acción de la LPL del tejido adiposo blanco y de esta manera el acúmulo de grasa en los adipocitos (135,138,139).

### **1.5.5 Evidencia clínica de la acción de ANGPTL-3**

En modelos murinos que no expresan ANGPTL-3 (KK/San) se evidencian menores niveles de colesterol, triglicéridos y ácidos grasos libres al igual que los modelos a los que se les inactiva la ANGPTL-3 por medio del anticuerpo monoclonal evinacumab (140,141). También que la capacidad de inhibir la LPL de ANGPTL-3 es potenciada por la ANGPTL-8 y disminuida cuando esta está ausente (135,136). Esto puede explicar el aumento de los efectos de ANGPTL-3 en el estado pos-prandial, dado el aumento de la síntesis de ANGPTL-8 (142). En conjunto, estos efectos contribuyen al direccionamiento de los triglicéridos de las moléculas como el C-VLDL, hacia el almacenamiento en los adipocitos en el estado pos-prandial.

Los modelos murinos que sobre expresan ANGPTL3 o a los que se les inyecta la proteína de manera endovenosa presentan un fenotipo caracterizado por una marcada hipertrigliceridemia (143). Por el contrario, los ratones que no expresan ANGPTL3 presentan un incremento en la actividad de la LPL, lo que lleva a una disminución de los

lípidos plasmáticos entre ellos los triglicéridos, pero también el colesterol total y el C-HDL, teniendo en cuenta que además de inhibir la LPL también tiene efecto sobre la lipasa endotelial(144,145).

Mehta y colaboradores estudiaron a 1770 pacientes con un promedio de edad de 53 años, 65% hombres, 49% con síndrome metabólico y 44% con DMT2, midiendo niveles plasmáticos de ANGPTL-3 y ANGPTL-4. En esta población se encontró que los niveles de ANGPTL-3 se asociaron positivamente y con significancia estadística con los niveles de C-LDL, C-HDL y colesterol total, pero no con triglicéridos ni VLDL como habría sido de esperar debido a la acción inhibitoria de esta molécula con la LPL (146). En un estudio en Finlandia en el que se usó una muestra al azar de 250 pacientes, 50% hombres, entre los 30 y 94 años, se determinaron niveles plasmáticos de ANGPTL-3 y 4. En este estudio se evidenció una correlación positiva con niveles de HDL y una correlación negativa con niveles de triglicérido plasmático (147). En estudios GWAS (*Genome-wide Associated studies*) se han asociado mutaciones en el locus de ANGPTL3 en humanos con niveles plasmáticos de triglicéridos disminuidos y las mutaciones de pérdida de función de este gen causan la hipobetalipoproteinemia familiar combinada 2 (FHBL2) caracterizada por niveles bajos de triglicéridos, C-LDL y C-HDL (148,149).

### **1.5.6 ANGPTL-3 e insulina en humanos**

Pacientes con mutaciones homocigotas de pérdida de función de ANGPTL-3 tienen menor índice HOMA, insulina basal y glucemia basal comparados con pacientes con mutaciones heterocigotas y no portadores de la mutación (150). Por otra parte, en el estudio de Abu-Farha en el que se incluyeron 235 pacientes entre los cuales había pacientes no obesos y no diabéticos, pacientes obesos pero no diabéticos y pacientes obesos y diabéticos, los niveles plasmáticos de ANGPTL-3 fueron mayores en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos, sin embargo, entre los diabéticos no hubo diferencias en estos niveles sin importar si el paciente era o no obeso. Los pacientes no diabéticos que eran obesos tuvieron niveles significativamente más altos de ANGPTL-3 que los pacientes no diabéticos que no eran obesos. La expresión de ANGPTL-3 en el tejido adiposo no tuvo diferencias entre ningún grupo (151). Estos hallazgos sugieren que

ANGPTL-3 puede intervenir en el metabolismo de los carbohidratos al estar aumentada en estados de resistencia a la insulina como la obesidad y la DM2, pudiendo ser un blanco terapéutico en un futuro cercano para estas enfermedades.

### **1.5.7 ANGPTL-3 y leptina en humanos**

Pacientes con lipodistrofia, un trastorno del metabolismo caracterizado por hipoleptinemia, en el que los pacientes no pueden acumular grasa de manera adecuada en el tejido adiposo y presentan aumento importante de los lípidos en sangre, en especial los triglicéridos, fueron estudiados midiendo niveles de ANGPTL-3 en plasma antes y después de la administración de metreleptina. Como se mencionó previamente, en modelos animales resistentes o con deficiencia a la leptina se habían demostrado aumento de la expresión de ANGPTL-3. En este estudio los pacientes con lipodistrofia tuvieron mayores niveles de ANGPTL-3 comparando con los controles sanos, los cuales disminuyeron posterior a la terapia con metreleptina. No se demostraron cambios en la resistencia a la insulina que pudieran explicar el hallazgo, pensando en que el aumento de la sensibilidad de esta suprimiera los niveles de ANGPTL-3 (152)

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo General

Determinar los niveles séricos *Angiopoietin-Like 3 (ANGPTL3)* en mujeres sanas y preeclámplicas durante tres periodos de la gestación y tres meses postparto y correlacionarlos con variables bioquímicas, hormonales e índices antropométricos.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Determinar los niveles séricos de *ANGPTL3* en mujeres gestantes a lo largo de los tres periodos de la gestación y tres meses postparto en mujeres sanas y con preeclampsia leve.
2. Determinar los niveles séricos de *ANGPTL3* en mujeres no gestantes durante la fase lútea y folicular del ciclo menstrual.
3. Correlacionar los niveles séricos de *ANGPTL3* en mujeres gestantes y no gestantes con variables bioquímicas
4. Correlacionar los niveles séricos de *ANGPTL3* con índices de resistencia a la insulina tales como el índice HOMA, el índice triglicérido – glucosa (TyG) el índice triglicérido/HDLc (TG/C-HDL)
5. Correlacionar los niveles séricos de *ANGPTL3* con variables antropométricos

## 3. Métodos

### 3.1 Pacientes y diseño del estudio

El presente es un estudio observacional descriptivo longitudinal de una cohorte de pacientes reclutadas por el departamento de Ginecología y Obstetricia de la Universidad Nacional de Colombia en el Hospital de Engativá de Bogotá entre los años 2012 y 2014. La cohorte original incluye 450 gestantes reclutadas en el primer control prenatal durante la semana 11 a la 13 de gestación por ecografía transvaginal y fecha de última regla. Todas las gestantes recibieron carbonato de calcio 600 mg al día, ácido fólico 1 mg al día y sulfato ferroso 200 mg al día.

En el presente estudio se incluyó un grupo de mujeres gestantes sanas (n=52) procedentes de la cohorte original, seguidas durante tres periodos de la gestación: temprano (12.2, rango: 10.5 – 14.4 semanas de gestación), intermedio (24.3, rango: 23.3 – 27.3 semanas de gestación), tardío (34.5, rango: 33.3 – 38.6 semanas de gestación) y 19 de estas mujeres fueron analizadas tres meses postparto. Las mujeres gestantes asistieron a consulta entre los meses de mayo de 2012 y noviembre de 2015.

La selección del grupo gestantes sanas se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones de la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), siguiendo dos fases de selección: a priori y a posteriori (153). En la primera fase, se incluyeron mujeres sanas con edad gestacional entre las 10.5 – 14.4 semanas, determinada por ultrasonografía, paridad de 0 a 4, feto único, IMC entre 17 y 29,9 kg/m<sup>2</sup> y quienes reportaron no padecer enfermedades crónicas de base, no estar tomando medicamentos, no fumar y no consumir alcohol de manera frecuente. En la segunda fase de selección, que fue posterior al desenlace materno-perinatal, se incluyeron solamente las mujeres que presentaron desenlace normal, es decir mujeres con parto o cesárea a término, con bebés con peso normal al nacimiento que no presentaron anomalías o malformaciones fetales, y mujeres quienes no desarrollaron patologías asociadas a la gestación

Adicionalmente, se seleccionaron 21 gestantes pertenecientes a la misma cohorte que desarrollaron preeclampsia leve y que contaban con los datos de seguimiento durante los tres trimestres de la gestación. El diagnóstico de preeclampsia se hizo de acuerdo con las recomendaciones del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos: presión sanguínea  $\geq 140/90$  mmHg tomada en dos ocasiones al menos con un intervalo de 4 horas después de la semana 20 de gestación (en una mujer con un presión arterial normal previa) y proteinuria ( $\geq 300$  mg en orina de 24 horas) (154).

También se incluyeron 20 mujeres sanas no gestantes con los ciclos menstruales ovulatorios (progesterona  $> 3.0$  ng/mL) regulares (27 a 35 días), IMC normal (18,5 y 24,9 kg/m<sup>2</sup>), que no hubieran lactado en los seis meses previos, que refirieron no fumar, no consumir sustancias psicoactivas, ni ingerir alcohol de manera regular y que no usaban medicamentos que alteran la tolerancia a la glucosa (agonistas  $\beta$ -adrenérgicos,  $\beta$ -bloqueadores, corticoides u otros fármacos que puedan afectar el metabolismo).

### 3.2 Pruebas de laboratorio

Durante cada periodo de control de la gestante y en las mujeres no gestantes se realizó una toma de sangre posterior a un ayuno de 8 horas, entre las 7:00 y 8:00 am. Las mujeres no gestantes se estudiaron durante las dos fases del ciclo menstrual, fase folicular (3 - 5 día del ciclo) y fase lútea (20 - 22 día del ciclo). Adicionalmente, en las mujeres no gestantes, en cada fase del ciclo menstrual se realizaron dos tomas de muestras sanguíneas entre las 9 am y 12 m, con un intervalo de media hora, con el fin de reportar el promedio de la concentración de progesterona. Para la toma de sangre se utilizaron tubos secos BD Vacutainer (5 mL). Las muestras de sangre se dejaron a temperatura ambiente por 20 minutos y la sangre coagulada se centrifugó a 1000Xg por 10 minutos a 4°C. Los sueros fueron almacenados a -80°C hasta la determinación de ANGPTL3, mediante elisas comerciales.

En todas las mujeres del estudio se determinó la concentración de la glucosa basal, el colesterol total, el colesterol HDL, colesterol LDL y los triglicéridos (SPINREACT, Santa Coloma, España). El colesterol VLDL se calculó como un quinto de los triglicéridos (155). La insulina basal se determinó mediante ensayo de quimioluminiscencia (Roche Elecsys

1010 Immunoanalyzer Boulder, Colorado, Estados Unidos) y la proteína C reactiva ultrasensible se determinó por inmunturbidimetría BS-400 Chemistry Analyzer (Mindray, Shenzhen, China). Con los valores de concentración basal de la glucosa e insulina, se calculó el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) descrito por Matthews y colaboradores (156). Los valores de los índices TyG y TG/HDL-c se calcularon como se ha descrito previamente (157). Los niveles séricos de progesterona se determinaron mediante inmunoensayo (Roche Elecsys 1010 Immunoanalyzer Boulder, Colorado, Estados Unidos).

Los sueros de las gestantes preeclámpticas fueron caracterizados previamente, mediante la medición de factores anti-angiogénicos como endoglina, el receptor 1 soluble del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF R1) o sFLT1 (sFMS-related tyrosine kinase 1) y los factores angiogénicos como el factor de crecimiento placentario (PIGF).

### **3.3 Determinación de los niveles séricos de ANGPTL-3**

Los niveles séricos de ANGPTL-3 humana fueron medidos usando el kit de ELISA disponible comercialmente (Número de catálogo DANL30 - R&D Systems, Inc. USA). Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron de menos de 4.1% y de 8.5% respectivamente. Todas las muestras se analizaron dos veces y se reportó el promedio de los dos valores. La secuencia estándar del kit usado va de Ser17 a Glu460, que corresponde a la proteína completo menos el péptido señal, por lo que este kit reconoce la proteína completa sin clivar, pero al no realizar mapeo de los epítomos de los anticuerpos no se sabe exactamente a que parte de la proteína se unen, pudiendo ser en cualquier lugar de la proteína completa.

### **3.4 Análisis estadístico**

Las pruebas estadísticas se realizaron con el software STATA 12.0. Se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk y los que se consideraban normales se expresaron como medias y desviación estándar, de lo contrario se

expresaron como mediana y rango intercuartílico. En caso de que algunas variables a comparar presentaran distribución normal y otras no, se expresaron todas como medianas. En cuanto a las diferencias estadísticas de las medianas de grupos con datos pareados se utilizó la prueba de Wilcoxon y en el caso de variables no pareadas de diferentes muestras se utilizó la prueba T para datos no pareados de muestras independientes y el test de Mann-Whitney (suma de rangos de Wilcoxon). Para establecer diferencias entre las medianas de más de dos grupos relacionados se utilizó la prueba de Friedman y Kendall. La correlación de los niveles de ANGPTL-3 con otras variables se probó por medio del coeficiente de correlación de Spearman. Se consideró significancia estadística valores de P menores de 0.05.

### 3.5 Aspectos Éticos

La presente propuesta hace parte del proyecto de investigación aprobado por Colciencias, “*Valor de biomarcadores séricos en la predicción del desenlace materno-perinatal de la gestante y su evolución a 6 meses*” (Código Proyecto: 110154531660). El Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia aprobó la presente propuesta de acuerdo a la declaración de Helsinki, **Acta No. 019.198-15** (12 noviembre de 2015), siguiendo los lineamientos establecidos en la “*Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia*”. Además, el presente es un estudio de cohorte que se desarrolló en los laboratorios de equipos comunes de la Facultad Medicina de la Universidad Nacional de Colombia y en el Hospital de Engativá del Distrito Capital de la Ciudad de Bogotá. En la toma de las muestras participaron enfermeras del programa de promoción y prevención del Hospital de Engativá y la consulta médica y los exámenes sonográficos fueron desarrollados por los profesores del Departamento de Ginecología y Obstetricia de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.



## 4. Resultados

### 4.1 Mujeres no gestantes

Se caracterizaron 20 mujeres no gestante con una media de edad de 21.2 años, con 3.42 años de desviación estándar y un rango entre 15 y 29 años, con Índice de Masa Corporal (IMC) promedio fue de 21.45 con DS de 2.25. El colesterol total promedio fue de 157.86 mg/dL (DS 24.8), con un C-HDL promedio de 52.13 mg/dL (DE 8.35), unos triglicéridos promedio de 75.73 mg/dL (DE 19.3), un C-LDL promedio de 114.17 mg/dL (DE 27.06) y un C-VLDL promedio de 15.14 mg/dL (DE 3.86).

El HOMA-IR promedio fue de 0.398 (DE 0.22), con una glucemia basal promedio de 84.2 mg/dL (DE 7.31). El promedio del índice Triglicéridos-Glucosa fue 8.03 DE(0.29) y el del cociente C-HDL/Triglicéridos fue 1.48 (DE 0.44).

Se tomaron las muestras a quienes se le tomaron muestras de sangre en fase folicular y fase lútea. La progesterona en fase folicular tuvo una mediana de 0.496 ng/mL y en fase lútea de 6.427 ng/mL (P=0.0001).

La mediana de los niveles de leptina en la fase folicular fueron 16.58 ng/mL (RI 14.92-17.89), mientras que en la fase lútea fue de 21.92 ng/mL (RI 20.41-23.67), con diferencias estadísticas significativas (P=0.0001).

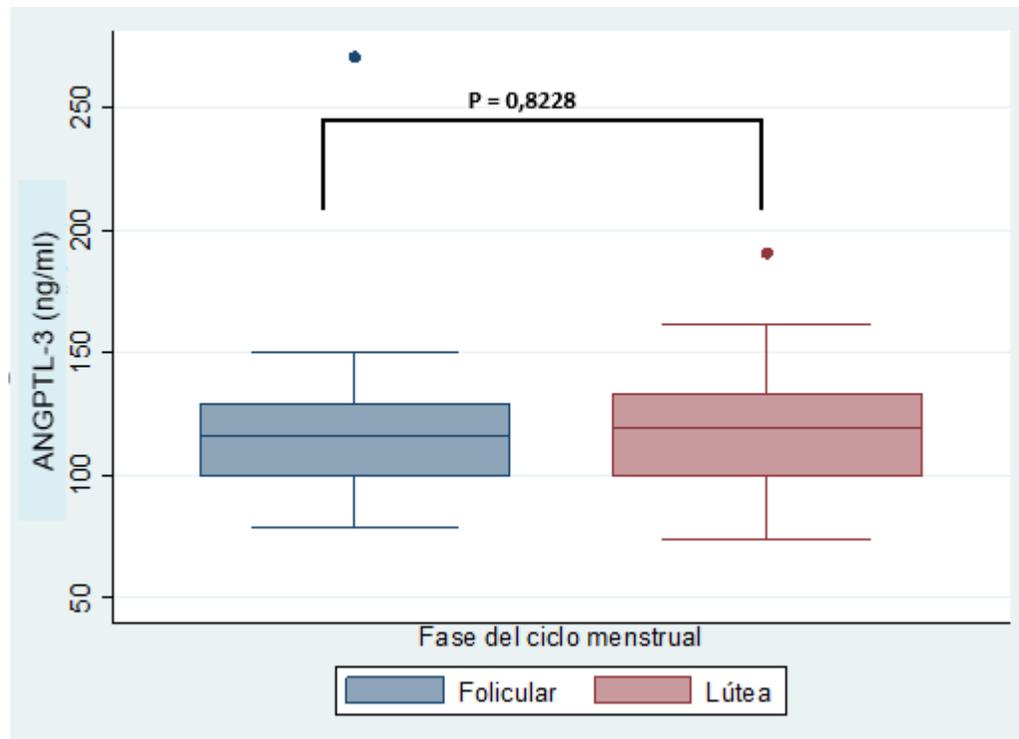
Tabla 1. Características mujeres no gestantes.

<b>Variable</b>	<b>Mujeres no gestantes (N=20)</b>
Edad (años) mediana (DE)	21.2 ± 3.42
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) media ± DE	21.45 ± 2.25
Colesterol total (mg/dL) ± DE	157.86 ± 24.8
C-HDL (mg/dL) ± DE	52.13 ± 8.35
C-LDL (mg/dL) ± DE	114.17 ± 27.06
C-VLDL (mg/dL) ± DE	15.14 ± 3.86
Triglicéridos (mg/dL) ± DE	75.73 ± 19.3
Glucemia basal (mg/dL) ± DE	84.31 ± 7.31
HOMA-IR	0.398 ± 0.22
Índice Triglicéridos-Glucosa	8.03 ± 0.29
Razón Triglicéridos/C-HDL	1.48 ± 0.44

DE: Desviación estándar, IMC: Índice de Masa Corporal

La mediana de los niveles de ANGPTL3 en la fase folicular fue 116.02 ng/mL (RI 100.14-128.99) mientras que en la fase lútea fue 119.28 ng/mL (RI 99.99-133.2), sin diferencias estadísticamente significativas (P=0.8228).

Figura 1. Comparación de los niveles de ANGPTL-3 de fase folicular con fase lútea del ciclo menstrual en mujeres no gestantes.



## 4.2 Mujeres gestantes sanas

Se caracterizaron 52 mujeres gestantes sanas durante los tres trimestres de la gestación con una media de edad de 25.15 años (DE 6.64) y un IMC promedio de 22.3 (DE 2.24) al iniciar el embarazo.

Los niveles de colesterol total fueron mayores en el segundo trimestre comparado con el primero y en el tercero comparado con el segundo ( $P=0.000$  para ambas comparaciones), C-LDL ( $P=0.000$  y  $P=0.0108$ ), C-VLDL ( $P=0.000$  para ambas comparaciones) y los triglicéridos ( $P=0.000$  para ambas comparaciones) con valores máximos en el tercer trimestre, mientras que el C-HDL aumentó en el segundo trimestre de la gestación ( $P=0.000$ ) pero sin diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre ( $P=0.3436$ ). Ver tabla 2.

Tabla 2. Perfil lipídico en gestación sana.

<b>Variable</b>	<b>Gestantes sanas 1 trimestre</b>	<b>Gestantes sanas 2 trimestre</b>	<b>Gestantes sanas 3 trimestre</b>
Edad (años) media (DE)	25.15 ± 6.64	25.15 ± 6.64	25.15 ± 6.64
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) media ± DE	22.3 ± 2.24	24.3 ± 2.35	26.2 ± 2.41
Colesterol total (mg/dL) media ± DE	167.9 ± 31.7	219.4 ± 41.3	241.26 ± 55.2
C-HDL (mg/dL) media ± DE	57.8 ± 11.6	67.7 ± 12.5	65.68 ± 11.47
C-LDL (mg/dL) media ± DE	113.27 ± 30.5	145.7 ± 47.3	157.6 ± 49.2
C-VLDL (mg/dL) mediana y RIC	21.66 (17.8-25.6)	34 (28.5-48.5)	50.65 (40.77-59.59)
Triglicéridos (mg/dL) mediana y RIC	108.3 (89.4-128.2)	170.4 (143.15-224.25)	253.25 (203.8-297.5)

RIC: rango intercuartílico, IMC: Índice de Masa Corporal

La glucemia basal fue mayor en el primer trimestre comparado con el segundo y el tercero (P=0.000 y P= 0.0049 respectivamente), sin diferencias entre segundo y tercer trimestre (P=0.8625). El HOMA-IR no tuvo diferencias significativas entre el primer y segundo trimestre (P= 0.1928), sin embargo en el tercer trimestre aumenta significativamente (P=0.0025). El índice triglicéridos-glucosa aumento en el segundo trimestre comparado con el primero (P=0.000) y en el tercero comparado con el segundo (P=0.000) al igual que la razón Triglicéridos/C-HDL (P=0.000 para ambas comparaciones). La leptina aumentó con significancia estadística a lo largo de la gestación (P=0.000 para ambas comparaciones). Ver tabla 3.

Tabla 3. Otras variables metabólicas en gestación sana

<b>Variable</b>	<b>Gestantes sanas 1 trimestre</b>	<b>Gestantes sanas 2 trimestre</b>	<b>Gestantes sanas 3 trimestre</b>
Glucemia basal (mg/dL)± DE	77.8 ± 6.17	73.8 ± 5.21	74.6 ± 7.1

HOMA-IR mediana y RIC	1.69 (1.1-2.27)	1.91 (1.37-2.46)	2.47 (1.41-3.25)
Índice Triglicéridos-Glucosa media $\pm$ DE	8.36 $\pm$ 0.31	8.78 $\pm$ 0.34	9.1 $\pm$ 0.32
Razón Triglicéridos/C-HDL mediana y RIC	1.89 (1.47-2.4)	2.67(2.07-3.5)	3.71 (2.93-4.7)
Leptina mediana (ng/mL)	20.46 (16.60-22.)	25.19 (20.63-28.54)	35.13 (27.54-44.25)
ANGPTL-3 mediana y RIC (ng/mL)	72.78 (55.15-86.62)	71.45 (52.9-99.25)	84.25 (59.9-121.5)

Los niveles de ANGPTL-3 aumentaron durante la gestación de manera significativa en el tercer trimestre, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre el primer y segundo trimestre. Comparado con las no gestantes, los niveles de ANGPTL-3 de la gestación fueron menores en los tres periodos con significancia estadística ( $P < 0.05$ ). En la figura 2 se observa la prueba de Friedman que se realizó para la gestación.

Figura 2. Niveles de ANGPTL-3 en no gestantes (NG) y durante la gestación sana.

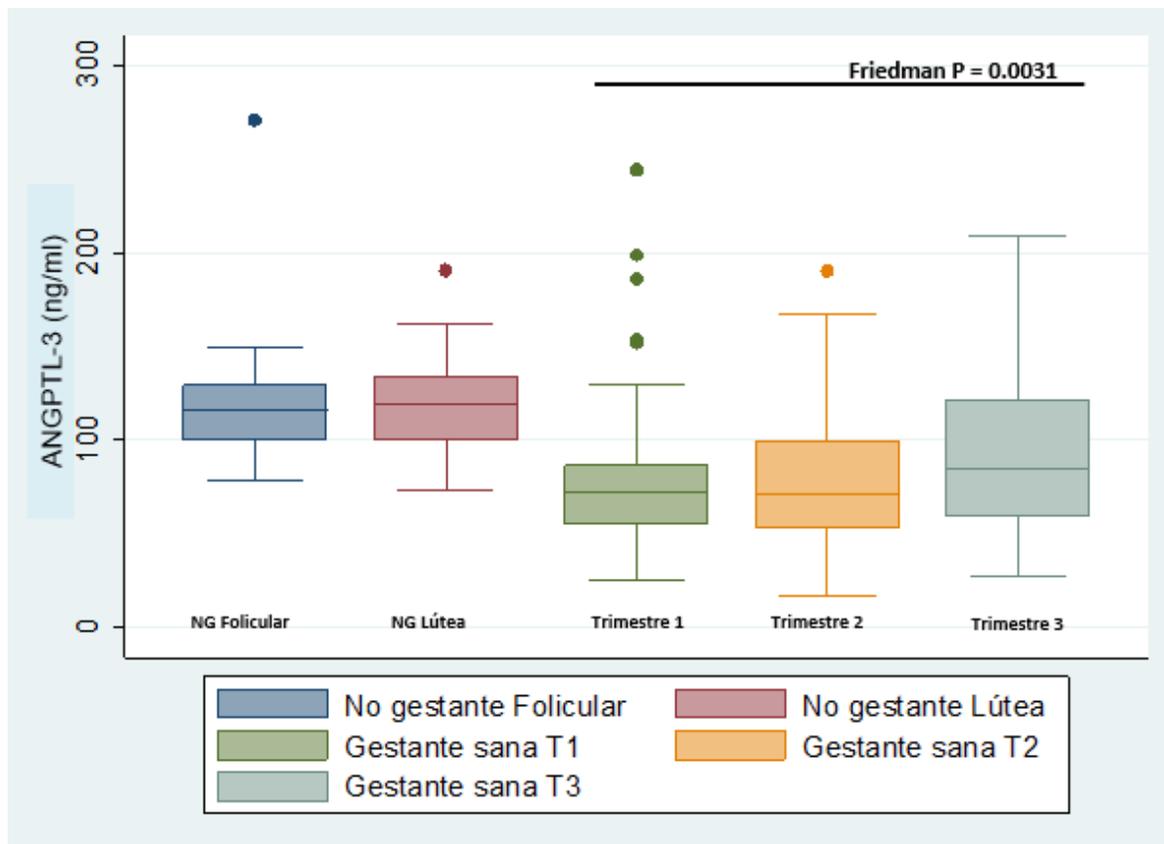


Tabla 4. Diferencias entre niveles de ANGPTL-3 por trimestre en gestante sana

Comparación	ANGPTL-3 mediana (pg/mL)		Valor P
Trimestre 1 y 2	72.78 (55.15-86.62)	71.45 (52.9-99.25)	0,9661
Trimestre 2 y 3	71.45 (52.9-99.25)	84.25 (59.9-121.5)	0,0061
Trimestre 1 y 3	72.78 (55.15-86.62)	84.25 (59.9-121.5)	0,0076

### 4.3 Mujeres gestantes con preeclampsia

Se caracterizaron 21 gestantes con preeclampsia durante los tres trimestres de la gestación, con una mediana de edad de 19 años (RIC 18-26) y un IMC promedio de 24.12 (DE 3.03).

El perfil lipídico se comportó de manera muy similar que en las pacientes gestantes sanas, con mayores niveles de colesterol total en el segundo trimestre comparado con el primero y en el tercero comparado con el segundo de colesterol total (P=0.0001 y P=0.0298), C-VLDL (P=0.0002 y P=0.0015), triglicéridos (P=0.0002 y P=0.0015) con valores máximos en el tercer trimestre. El C-LDL aumentó en el segundo trimestre (P=0.0033) pero en este caso se mantuvo estable en el tercer trimestre (P=0.2305) al igual que el C-HDL aumentó en el segundo trimestre de la gestación (P=0.0002) pero sin diferencias significativas entre segundo y tercer trimestre (P=0.2172).

Tabla 5. Perfil lipídico en gestación con preeclampsia leve.

Variable	Gestantes PE 1 trimestre	Gestantes PE 2 trimestre	Gestantes PE 3 trimestre
Edad (años) mediana y RIC	19 (18-26)		
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) media ± DE	24.12 ± 3.03	26.56 ± 3.16	29.46 ± 3.04

Colesterol total (mg/dL) media $\pm$ DE	170.03 $\pm$ 31.31	219.75 $\pm$ 42.98	235.98 $\pm$ 46.82
C-HDL (mg/dL) media $\pm$ DE	53.53 $\pm$ 12.01	64.53 $\pm$ 14.14	59.54 $\pm$ 17.8
C-LDL (mg/dL) media $\pm$ DE	117.26 $\pm$ 35.8	146.65 $\pm$ 56.58	150.43 $\pm$ 56.95
C-VLDL (mg/dL) mediana y RIC	24.23 $\pm$ 9.8	38.69 $\pm$ 19.30	51.44 $\pm$ 16.78
Triglicéridos (mg/dL) media $\pm$ DE	121.16 $\pm$ 49.02	193.47 $\pm$ 96.51	257.81 $\pm$ 83.9

La glucemia no tuvo diferencias significativas entre el primer y segundo trimestre ( $P=0.1302$ ) ni entre el segundo y tercer trimestre ( $P=0.2233$ ). El HOMA-IR tampoco tuvo diferencias significativas entre los trimestres ( $P=0.2046$  y  $P=0.4342$ ). El índice Triglicéridos-Glucosa aumentó de manera significativa en el segundo trimestre comparado con el primero ( $P=0.0005$ ) y en el tercero comparado con el segundo ( $P=0.0010$ ). La razón Triglicéridos/C-HDL también aumentó significativamente en cada trimestre ( $P=0.0009$  y  $P=0.0008$ ). La leptina aumentó en el segundo trimestre ( $P=0.0001$ ) y continuó aumentando en el tercer trimestre ( $P=0.0442$ ). Ver tabla 4.

Tabla 6. Otras variables en gestación con preeclampsia leve.

Variable	Gestantes PE 1 trimestre	Gestantes PE 2 trimestre	Gestantes PE 3 trimestre
Glucemia basal (mg/dL) media $\pm$ DE	77.8 $\pm$ 6.17	77.04 $\pm$ 7.51	74.45 $\pm$ 8.59
HOMA-IR mediana y RIC	2.4 (1.74-2.8)	2.79 (2.16-3.69)	2.48 (2.1-3.46)
Índice Triglicéridos- Glucosa media $\pm$ DE	8.4 $\pm$ 0.42	8.78 $\pm$ 0.58	9.11 $\pm$ 0.37
Razón Triglicéridos/C- HDL mediana y RIC	2.17 (1.44-3.01)	2.97 (1.96-3.72)	4.56 (2.77-5.97)
Leptina mediana (ng/mL)	32.67 (28.9-43.35)	61.04 (43.56- 92.12)	89.93 (51.66- 13.18)
ANGPTL-3 mediana (ng/mL)	79.7 $\pm$ 35.4	67.35 $\pm$ 32.4	85.31 $\pm$ 24.06

Los niveles de ANGPTL-3, al igual que en las gestantes sanas, no fueron diferentes en los primeros dos trimestres ( $P=0.2891$ ) pero se incrementaron significativamente en el tercer trimestre comparado con el segundo ( $P=0.0117$ ), aunque entre el primer y tercer trimestre no se estableció tampoco diferencia significativa como se observa en la tabla 7.

Comparado con el posparto y las no gestantes, los niveles de ANGPTL-3 fueron menores en los tres trimestres de la gestación con preeclampsia con significancia estadística ( $P < 0.05$ ). En la figura 3 se observa la significancia de la prueba de Friedman para las diferencias entre los niveles de ANGPTL-3 en los distintos trimestres de la gestación con preeclampsia y su comparación con el posparto. En la Figura 7 se observa la comparación con las no gestantes.

Figura 3. Niveles de ANGPTL-3 durante la gestación con preeclampsia leve.

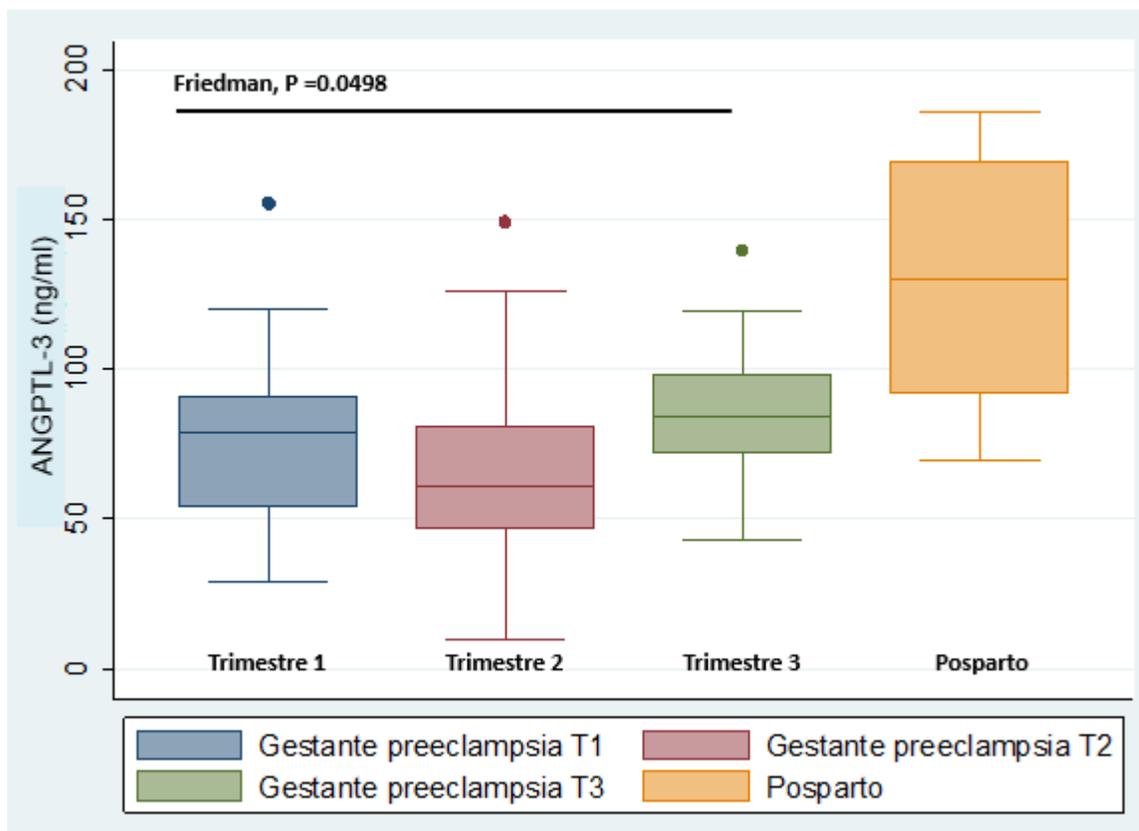


Tabla 7. Diferencias entre niveles de ANGPTL-3 por trimestre en gestante con preeclampsia leve

Comparación	ANGPTL-3 mediana (pg/mL)		Valor P
Trimestre 1 y 2	79.7 ± 35.4	67.35 ± 32.4	0.2891
Trimestre 2 y 3	67.35 ± 32.4	85.31 ± 24.06	0.0117
Trimestre 1 y 3	79.7 ± 35.4	85.31 ± 24.06	0.2443

#### 4.4 Mujeres en posparto

Se caracterizaron 19 mujeres en posparto con un promedio de edad de 23.52 años (DE 6.46) y de IMC de 23.44 años (DE 2.35).

El colesterol total promedio fue de 159.67 mg/dL (DE 30.88), con una mediana de C-HDL de 49 mg/dL (RIC 39.19-53), de C-VLDL de 14.08 mg/dL (RIC 10.22-23.0) y de triglicéridos de 70.4 mg/dL (RIC 51.5-115.7). El C-LDL tuvo una media de 95.9 (DE 30.15).

Tabla 8. Características mujeres en posparto (n=19)

Variable	Mujeres posparto
Edad (años) media $\pm$ (DE)	23.52 $\pm$ 6.46
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) media $\pm$ DE	23.44 $\pm$ 2.35
Colesterol total (mg/dL) $\pm$ DE	159.67 $\pm$ 30.88
C-HDL (mg/dL) $\pm$ DE	49 (39.19-53)
C-LDL (mg/dL) $\pm$ DE	95.9 $\pm$ 30.15
C-VLDL (mg/dL) $\pm$ DE	14.08 (10.22-23.0)
Triglicéridos (mg/dL) $\pm$ DE	70.4 (51.5-115.7)

La glucemia basal tuvo una mediana de 79 mg/dL (RIC 77-83), con mediana del índice HOMA-IR de 1.1 (RIC 0.72-1.86) y del índice Triglicéridos/C-HDL de 1.64 (1.26-2.6). El promedio del índice Triglicéridos-Glucosa fue de 8.05 (DE 0.53). Los niveles promedio de ANGPTL-3 fueron de 124.29 ng/mL (DE 37.1). No se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre ninguna de las variables medidas en las mujeres posparto y los niveles séricos de ANGPTL-3.

Tabla 9. Otras variables mujeres en posparto (n=19)

Variable	Mujeres posparto
Glucemia basal (mg/dL) mediana y RIC	79 (77-83)
HOMA-IR mediana y RIC	1.1 (0.72-1.86)
Índice Triglicéridos-Glucosa media $\pm$ DE	8.05 $\pm$ 0.53
Razón Triglicéridos/C-HDL mediana y RIC	1.64 (1.26-2.6)
ANGPTL-3 (ng/mL) media $\pm$ DE	124.29 $\pm$ 37.1

#### 4.5 ANGPTL-3

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de ANGPTL-3 comparando la fase folicular y lútea del ciclo menstrual en mujeres no gestantes (Figura 1) y en mujeres gestantes, tanto sanas como preeclámplicas hubo un aumento significativo de niveles de ANGPTL-3 en el tercer trimestre sin diferencias estadísticamente significativas entre el primero y segundo trimestre de la gestación (Figura 2 y Figura 3).

##### 4.5.1 No gestantes, gestantes sanas y posparto

Al comparar los niveles de ANGPTL-3 entre las no gestantes y el primer trimestre de la gestación sana, se observa una disminución estadísticamente significativa de éstos (119.28 ng/mL en fase lútea vs 72.78 ng/mL en primer trimestre de la gestación sana). Los niveles de ANGPTL-3 en mujeres no gestantes fueron mayores con significancia

estadística comparados con cualquiera de los tres trimestres del embarazo. Se observa entonces una disminución significativa de los niveles plasmáticos de ANGPTL-3 en el primer trimestre de la gestación sana comparado con las no gestantes, sin cambio significativo en el segundo trimestre y con un aumento estadísticamente significativo en el tercer trimestre pero que siguen siendo menores que los niveles de ANGPTL-3 de las pacientes no gestantes.

Tabla 10. Niveles de ANGPTL-3 de no gestantes y gestantes sanas.

Etapa	ANGPTL-3 (ng/mL) mediana y RIC
No gestante	
Fase folicular	116.02 (100.14-128.99)
Fase lútea	119.28 (99.99-133.20)
Gestantes	
Sana trimestre 1	72.78 (55.15-86.62)
Sana trimestre 2	71.45 (52.9-99.25)
Sana trimestre 3	84.25 (59.9-121.5)

En las pacientes posparto los niveles de ANGPTL-3 son significativamente mayores que en los tres trimestres del embarazo. Sin embargo, no tienen una diferencia estadísticamente significativa comparado con los niveles de las pacientes no gestantes. Ver Figura 5 y 6.

Durante la gestación sana se observa una disminución estadísticamente significativa de la ANGPTL-3 que vuelve a sus valores basales después del parto.

Figura 4. Comparación ANGPTL-3 gestantes sanas y posparto.

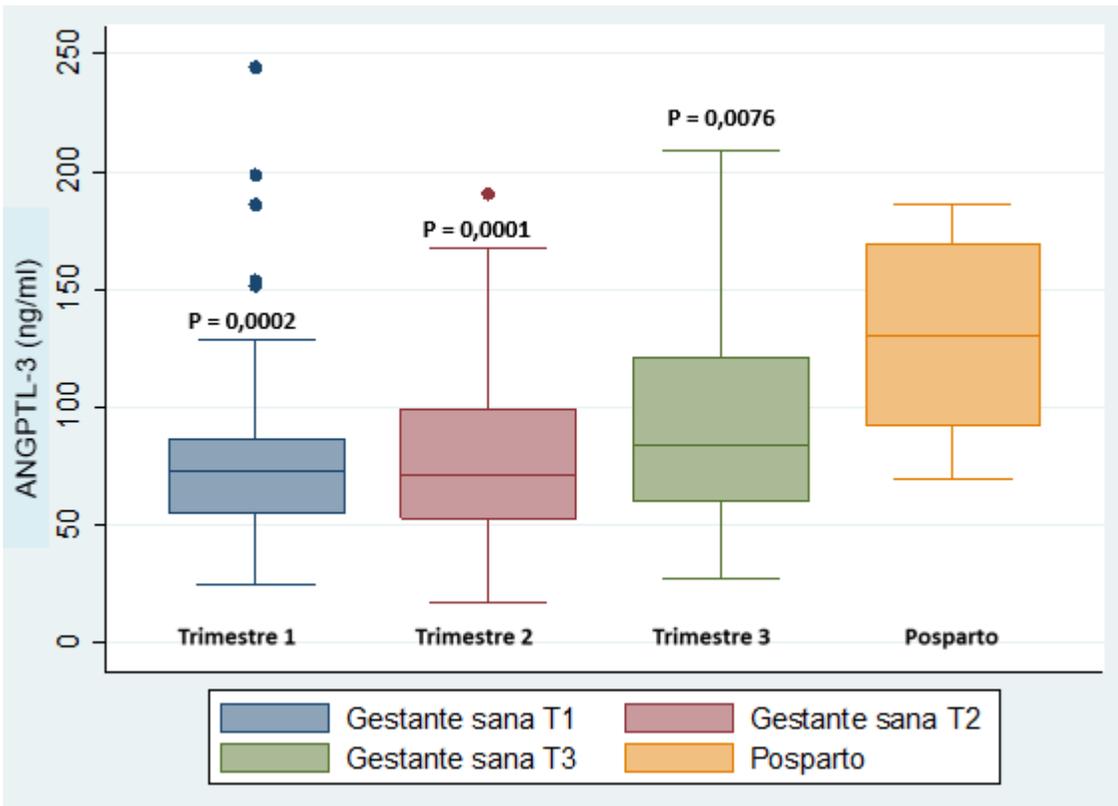


Figura 5. Comparación ANGPTL-3 no gestantes y posparto.

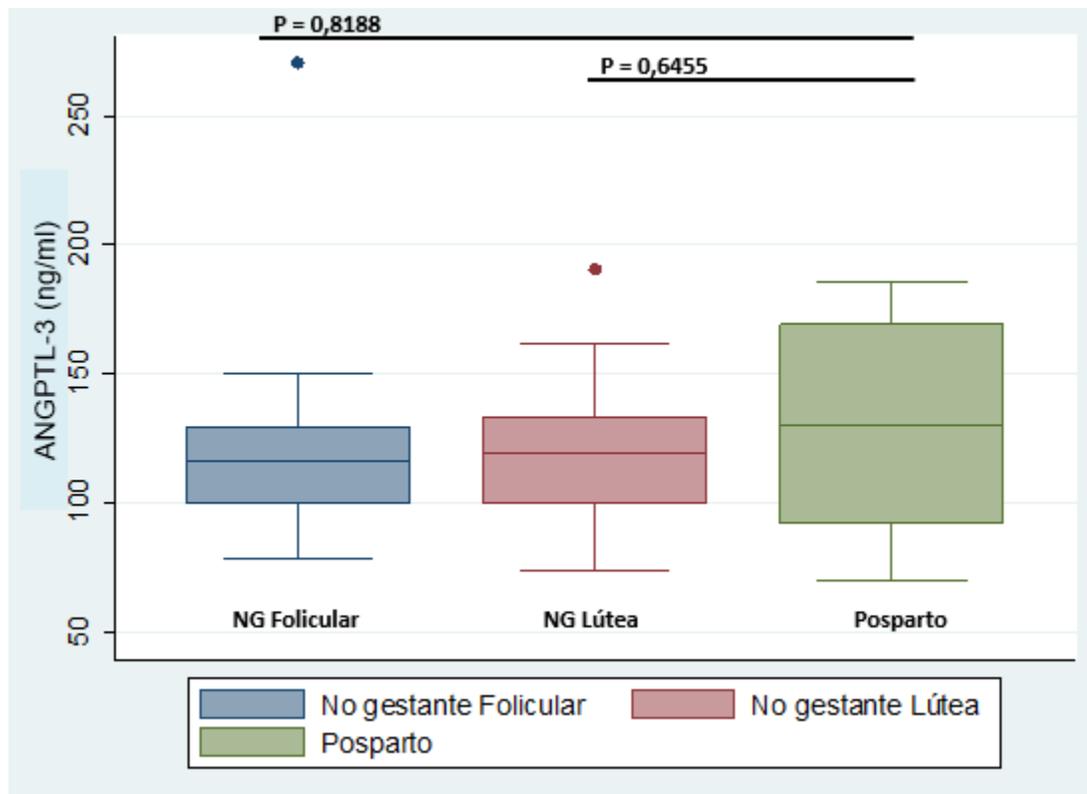


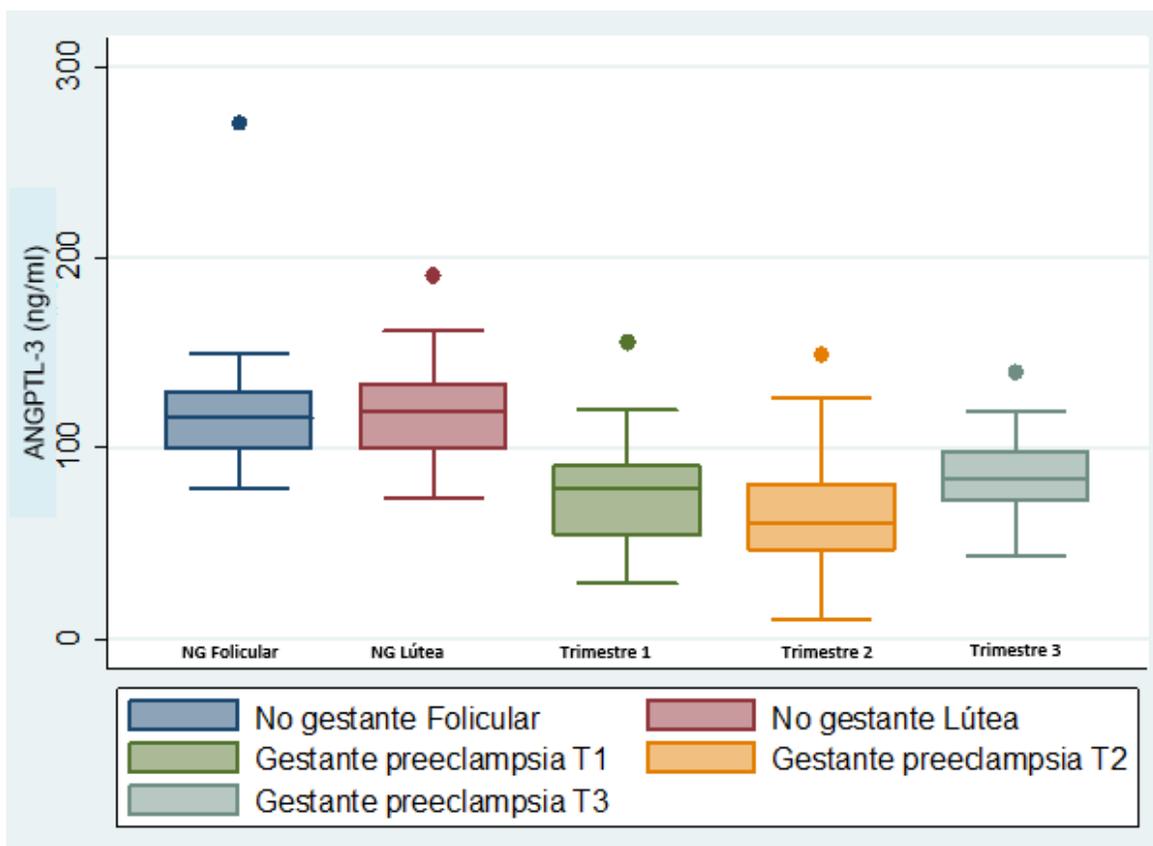
Tabla 11. Niveles de ANGPTL-3 no gestantes, gestantes sanas y posparto.

Etapa	ANGPTL-3 (ng/mL) mediana y RIC
No gestante	
Fase folicular	116.02 (100.14-128.99)
Fase lútea	119.28 (99.99-133.20)
Gestantes	
Sana trimestre 1	72.78 (55.15-86.62)
Sana trimestre 2	71.45 (52.9-99.25)
Sana trimestre 3	84.25 (59.9-121.5)
Posparto	130 (91.78-169.41)

### 4.5.2 Gestantes preeclámpticas

Similar a los resultados en las gestantes sanas, las gestantes con preeclampsia tuvieron niveles significativamente menores en el primer trimestre del embarazo comparado con las no gestantes tanto en fase lútea como folicular ( $P < 0.05$ ). Ver figura 7.

Figura 6. Comparación ANGPTL-3 no gestante y gestante con preeclampsia leve.



Además, también tuvieron niveles menores comparados con las mujeres en posparto con significancia estadística (figura 3).

De esta manera mostrando un comportamiento muy parecido a las gestantes sanas. Disminuye las concentraciones plasmáticas de ANGPTL-3 en el primer trimestre, sin cambios significativos en el segundo trimestre y con un incremento significativo en el tercero sin alcanzar los valores de las pacientes no gestantes o las posparto.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los niveles de ANGPTL-3 por trimestre entre las gestantes sanas y las gestantes con preeclampsia ( $P > 0.05$  en cada comparación). Ver Figura 9.

Figura 7. Comparación ANGPTL-3 gestante sana (GS) y gestante con preeclampsia leve (PE).

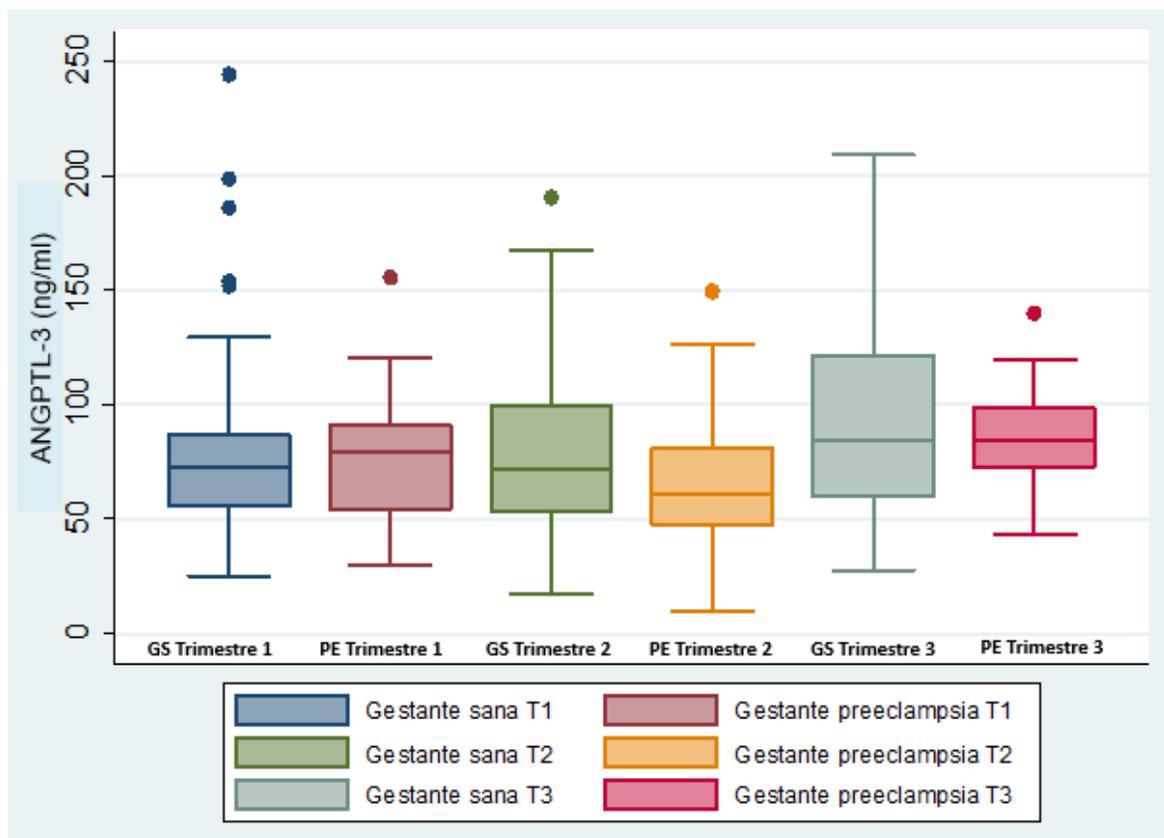


Tabla 12. Niveles de ANGPTL-3 de todos los grupos evaluados.

Etapa	ANGPTL-3 (ng/mL) mediana y RIC
No gestante	
Fase folicular	116.02 (100.14-128.99)

Fase lútea	119.28 (99.99-133.20)	
Gestantes	Sanas	Preeclampsia
Trimestre 1	72.78 (55.15-86.62)	79.01 (54.01-90.72)
Trimestre 2	71.45 (52.9-99.25)	60.77 (46.87-80.90)
Trimestre 3	84.25 (59.9-121.5)	84.15 (72.44-98.43)
Posparto	130 (91.78-169.41)	

## 4.6 Correlaciones

### 4.6.1 No gestantes

En la fase folicular se encontró correlación positiva de los niveles de ANGPTL-3 con el C-VLDL, los triglicéridos ( $\rho = 0.4882$ ,  $P=0.0290$  para ambos) y la razón Triglicéridos/HDL ( $\rho = 0.5143$ ,  $P= 0.0203$ )

Figura 8. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes y C-VLDL

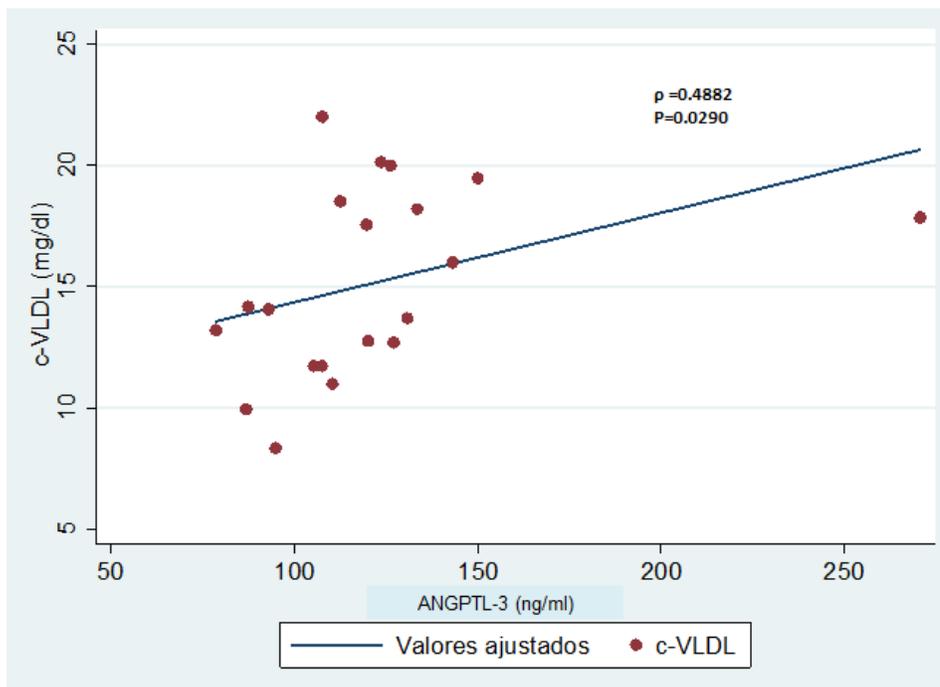


Figura 9. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes y Triglicéridos

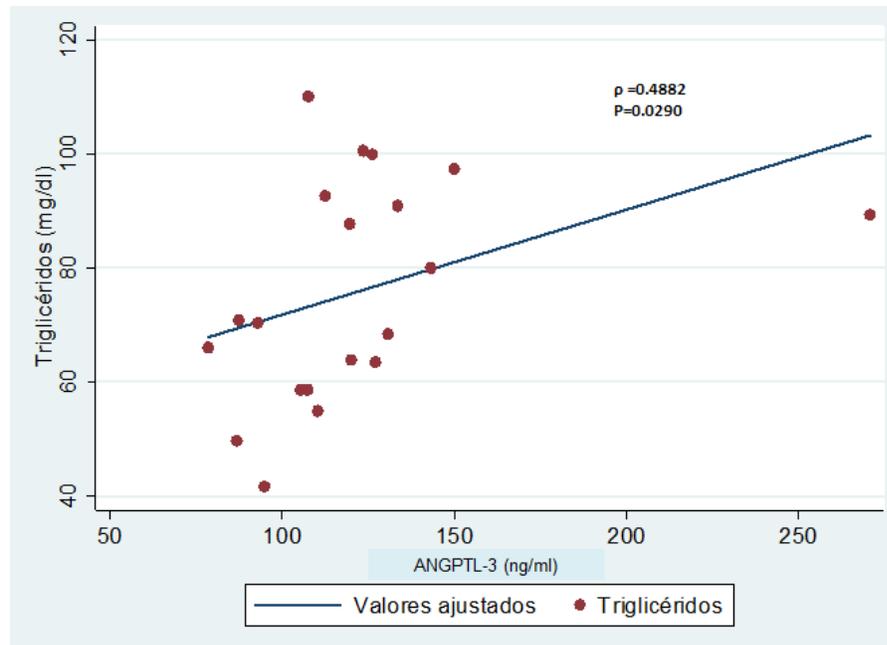
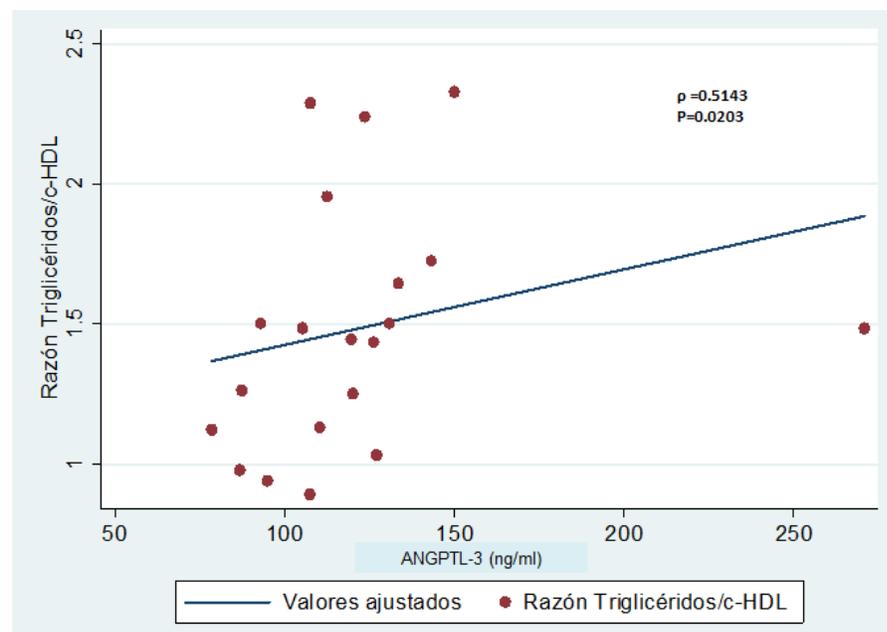
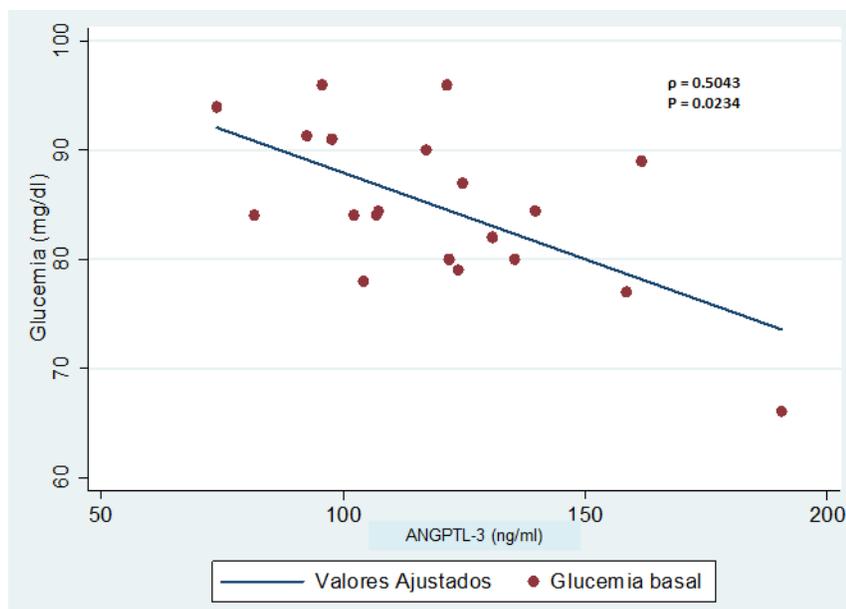


Figura 10. Correlación ANGPTL-3 folicular en no gestantes con razón Triglicéridos/HDL



Los niveles de ANGPTL-3 en la fase lútea se correlacionaron negativamente con los niveles de glucemia basal en las mujeres no gestantes ( $\rho = -0.5043$ ,  $P = 0.0234$ )

Figura 11. Correlación ANGPTL-3 lútea en no gestantes y Glucemia basal



No se encontró ninguna otra asociación estadísticamente significativa.

Tabla 13. Correlaciones con ANGPTL-3 en no gestantes mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Variable	ANGPTL-3 folicular	P	ANGPTL-3 lútea	
Edad (años)	0,2317	>0,05	-0,0198	>0,05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	-0,0226	>0,05	0,0511	>0,05
Colesterol total (mg/dL)	0,418	>0,05	0,2451	>0,05
C-HDL (mg/dL)	-0,030	>0,05	0,1023	>0,05
C-LDL (mg/dL)	0,4135	>0,05	-0,0120	>0,05
C-VLDL (mg/dL)	0,4882	0,0290	0,0692	>0,05
Triglicéridos (mg/dL)	0,4882	0,0290	0,0692	>0,05
Glucemia basal (mg/dL)	-0,1568	>0,05	-0,5043	0,0234
HOMA-IR	0,0376	>0,05	-0,2917	>0,05
Índice Triglicéridos-Glucosa	0,3940	>0,05	-0,1128	>0,05
Razón Triglicéridos/C-HDL	0,5143	0,0203	0,2707	>0,05
PCR	0,1426	>0,05	0,2484	>0,05

## 4.6.2 Gestantes sanas

Se encontró correlación negativa y estadísticamente significativa entre ANGPTL-3 y la glucemia basal en el primer ( $\rho=0.1659$ ,  $P=0.0455$ ) y segundo ( $\rho=0.3031$ ,  $P=0.0455$ ) trimestre de la gestación sana.

Figura 12. Correlación ANGPTL-3 y glucemia basal en el primer trimestre de gestación sana.

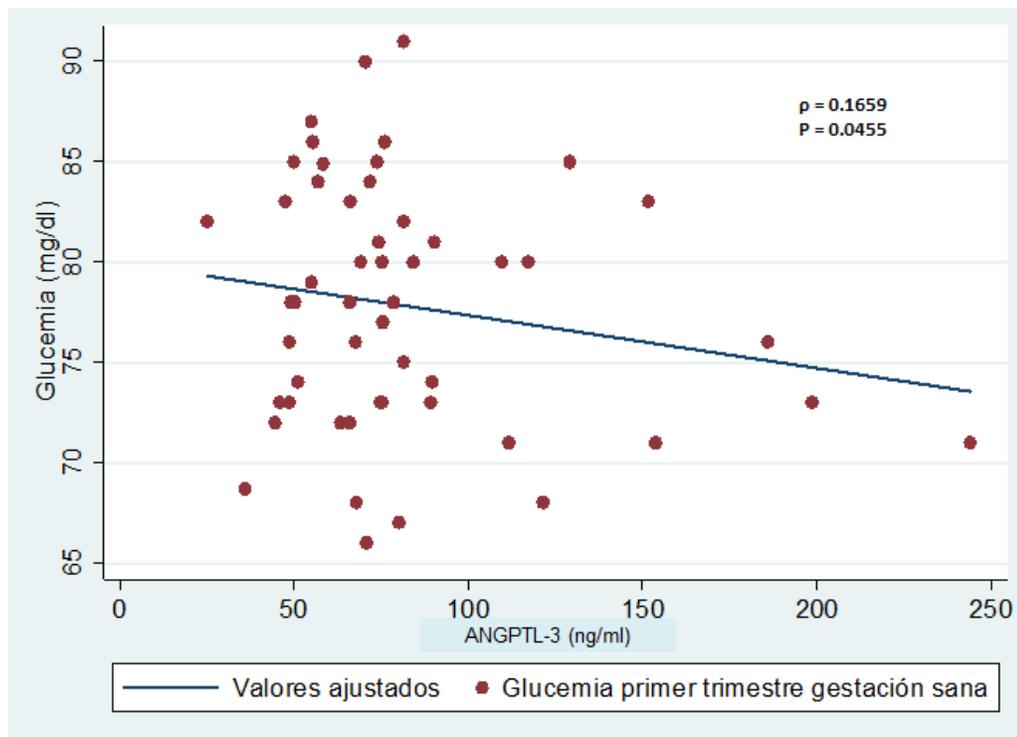


Figura 13. Correlación ANGPTL-3 y glucemia basal en el segundo trimestre de gestación sana.

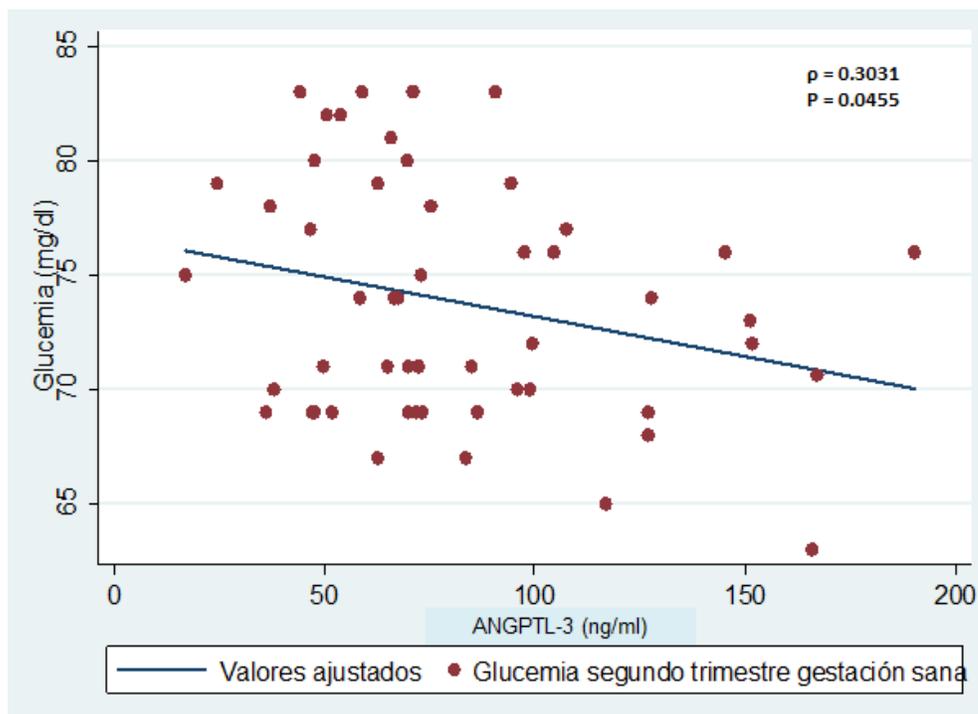


Tabla 14. Correlaciones con ANGPTL-3 en gestantes sanas mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Correlación	1 trimestre		2 trimestre		3 trimestre	
	ANGPTL-3	P	ANGPTL-3	P	ANGPTL-3	P
Peso	-0,1572	>0,05	-0,2156	>0,05	-0,1989	>0,05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	-0,1359	>0,05	-0,1441	>0,05	-0,0578	>0,05
Colesterol total (mg/dL)	0,0098	>0,05	0,0955	>0,05	0,1974	>0,05
C-HDL (mg/dL)	-0,1443	>0,05	-0,2458	>0,05	0,0034	>0,05
C-LDL (mg/dL)	-0,1010	>0,05	0,1403	>0,05	0,2624	>0,05
C-VLDL (mg/dL)	-0,1367	>0,05	0,0336	>0,05	-0,0731	>0,05
Triglicéridos (mg/dL)	-0,1367	>0,05	0,0389	>0,05	-0,0731	>0,05
Glucemia basal (mg/dL)	-0,1659	0,0455	0,3031	0,0455	-0,2437	>0,05
HOMA-IR	-0,1317	>0,05	-0,2107	>0,05	-0,1467	>0,05
Índice Triglicéridos-Glucosa	-0,1860	>0,05	-0,0472	>0,05	-0,0898	>0,05
Razón Triglicéridos/C-HDL	-0,0187	>0,05	0,1950	>0,05	-0,0371	>0,05
Leptina (ng/mL)	-0,0701	>0,05	-0,1898	>0,05	-0,1406	>0,05
PCR (mg/dL)	-0,08	>0,05	-0,1663	>0,05	-0,0234	>0,05

### 4.6.3 Gestantes con preeclampsia

En el grupo de pacientes gestantes con preeclampsia, se encontró correlación positiva de los niveles de ANGPTL-3 con los niveles de colesterol total ( $\rho=0.5018$ ,  $P=0.0286$ ), C-HDL ( $\rho=0.4579$ ,  $P=0.0487$ ) y C-LDL ( $\rho=0.4561$ ,  $P=0.0497$ ).

Figura 14. Correlación ANGPTL-3 y colesterol total en primer trimestre de preeclampsia.

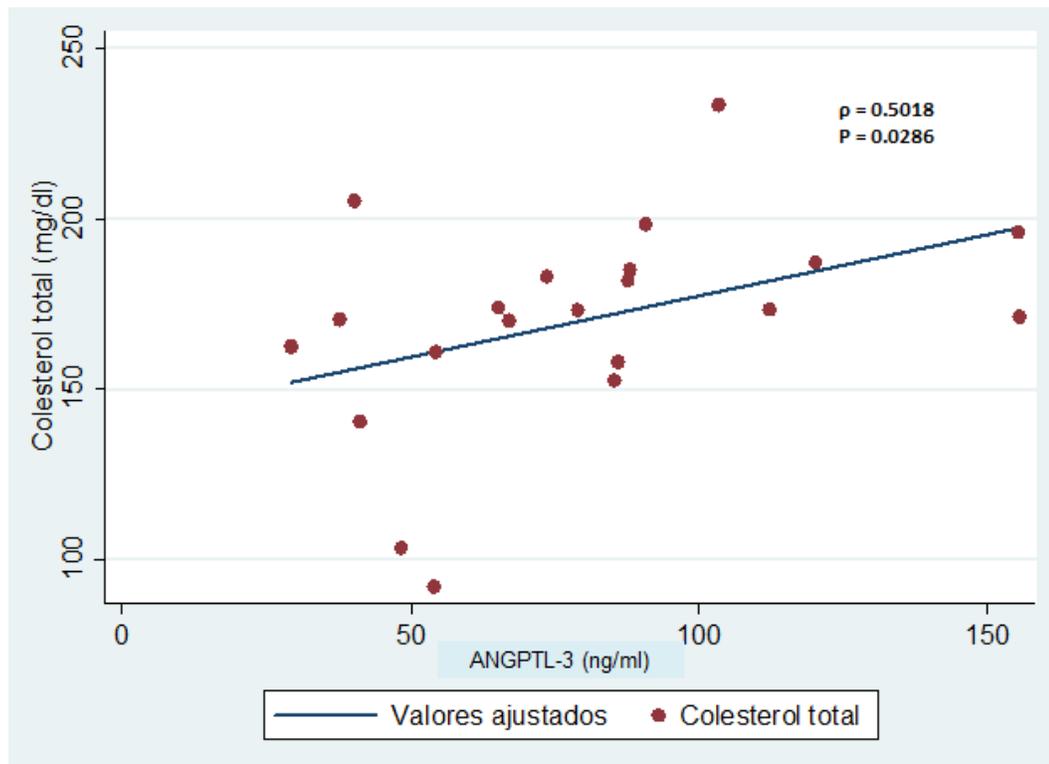


Figura 15. Correlación ANGPTL-3 y C-HDL en primer trimestre de preeclampsia.

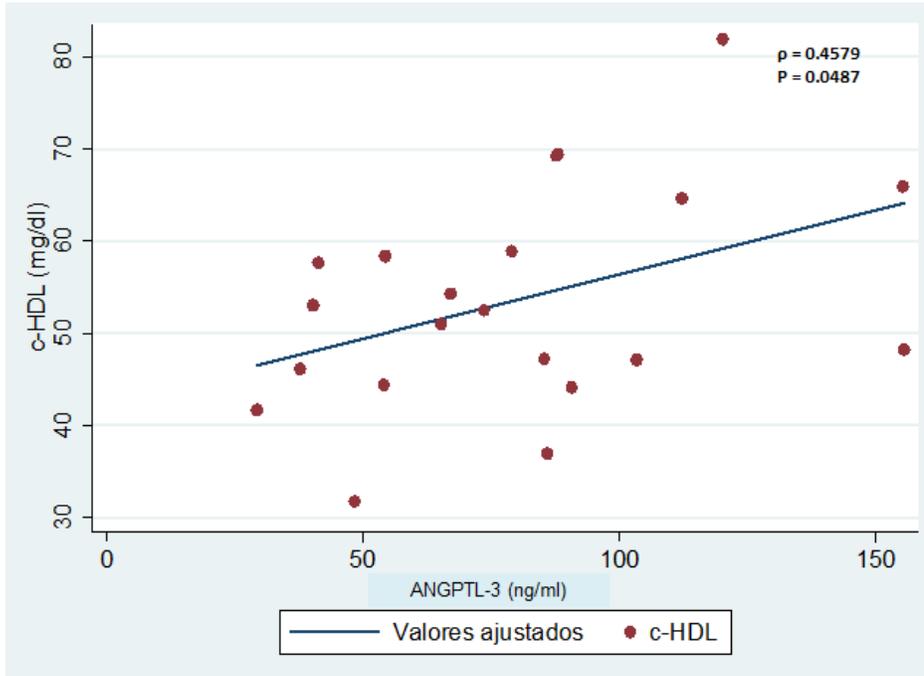
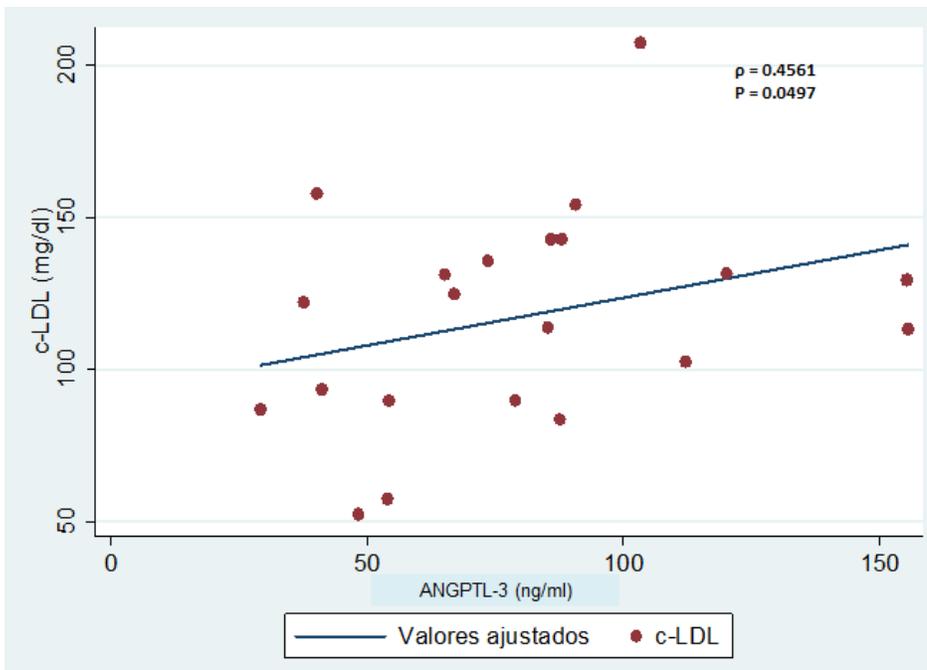


Figura 16. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL en primer trimestre de preeclampsia.



Se encontró correlación positiva de los niveles de colesterol total ( $\rho=0.5555$ ,  $P=0.0135$ ), y C-LDL ( $\rho=0.5789$ ,  $P=0.0094$ ), con los niveles de ANGPTL-3 durante el segundo trimestre de la gestación con preeclampsia.

Figura 17. Correlación ANGPTL-3 y colesterol total en segundo trimestre de gestación con preeclampsia leve

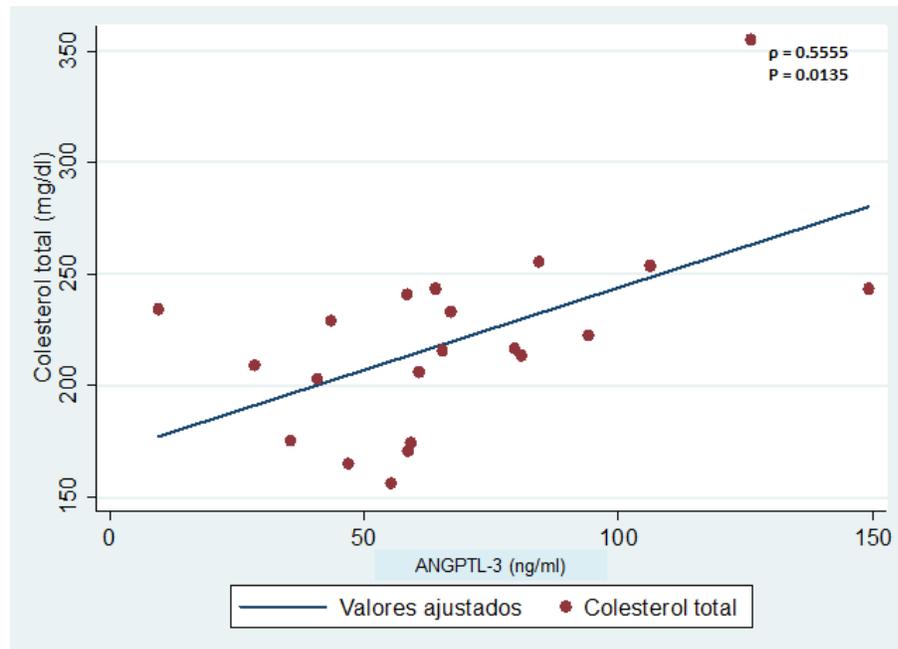
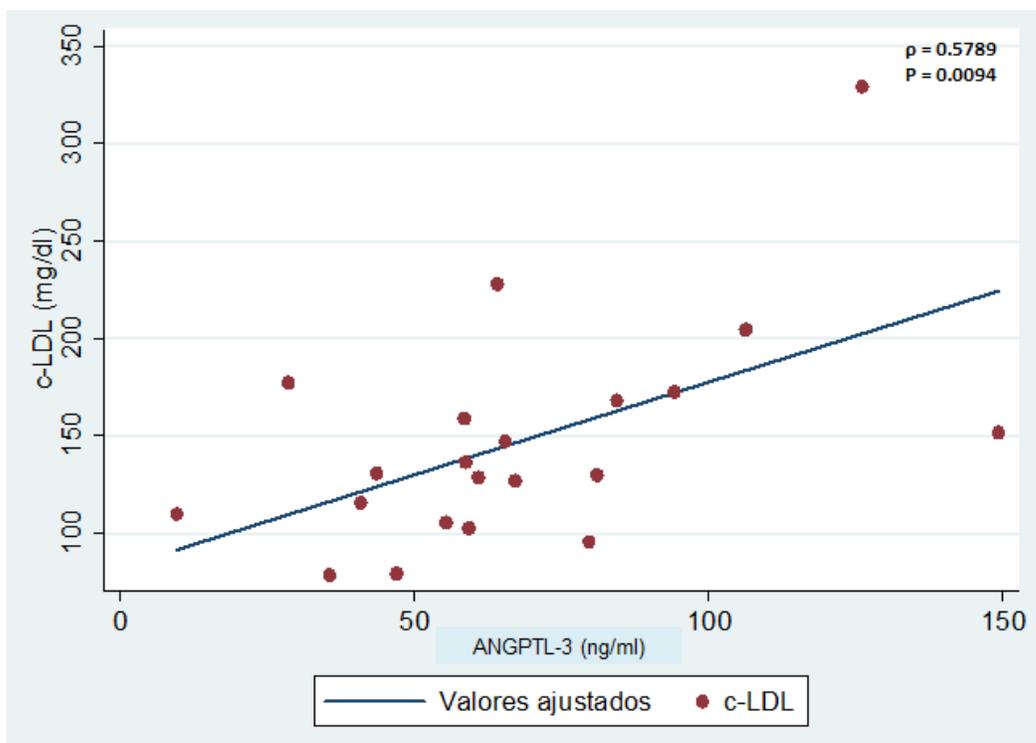
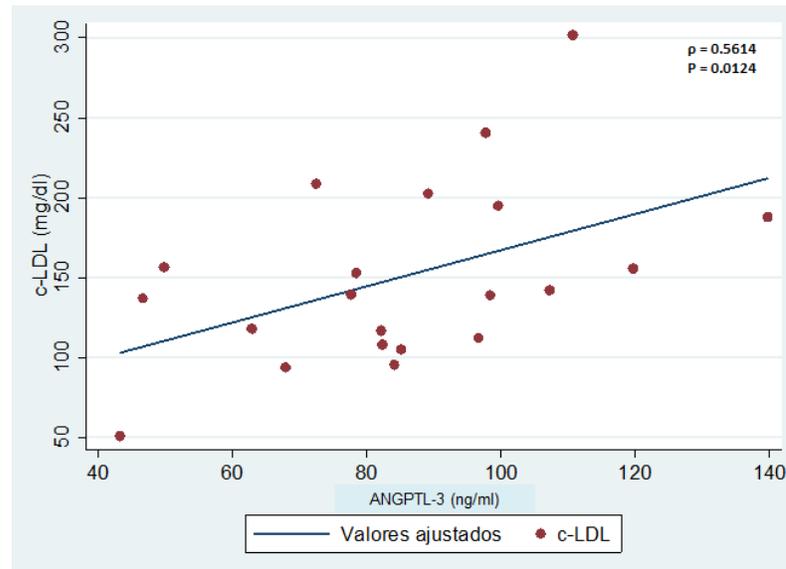


Figura 18. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL total en segundo trimestre de gestación con preeclampsia leve.



Se encontró correlación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles de C-LDL ( $\rho=0.5614$ ,  $P=0.0124$ ) y los niveles de ANGPTL-3 en el tercer trimestre de la gestación con preeclampsia.

Figura 19. Correlación ANGPTL-3 y C-LDL en tercer trimestre de gestación con preeclampsia leve.



No se encontró ninguna otra asociación estadísticamente significativa.

Tabla 15. Correlaciones con ANGPTL-3 en gestantes con preeclampsia leve mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Correlación	ANGPTL-3		2 trimestre		3 trimestre	
	ANGPTL-3	P	ANGPTL-3	P	ANGPTL-3	P
Peso	0,1754	>0,05	-0,2273	>0,05	-0,1781	>0,05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	0,2000	>0,05	-0,0754	>0,05	-0,2579	>0,05
Colesterol total (mg/dL)	0.5018	0.0286	0.5555	0.0135	0.407	>0,05
C-HDL (mg/dL)	0,4579	0,0487	0,0947	>0,05	0,0053	>0,05
C-LDL (mg/dL)	0,4561	0,0497	0,5789	0,0094	0,5614	0,0124
C-VLDL (mg/dL)	-0,1825	>0,05	0,0211	>0,05	0,0684	>0,05
Triglicéridos (mg/dL)	-0,1825	>0,05	0,0211	>0,05	0,0684	>0,05
Glucemia basal (mg/dL)	-0,2033	>0,05	-0,2306	>0,05	-0,1013	>0,05
HOMA-IR	0,1018	>0,05	-0,0877	>0,05	0,2632	>0,05
Índice Triglicéridos-Glucosa	-0,1965	>0,05	0,0474	>0,05	0,0737	>0,05
Razón Triglicéridos/C-HDL	-0,3000	>0,05	0,0053	>0,05	0,1211	>0,05
Leptina (ng/mL)	0.2704	>0,05	-0.0281	>0,05	0.2123	>0,05
PCR (mg/dL)	-0.3228	>0,05	-0.0255	>0,05	-0.3351	>0,05

#### 4.6.4 Posparto

Se encontró correlación positiva estadísticamente significativa entre los niveles de C-HDL con los niveles de ANGPTL-3 ( $\rho=0.4899$ ,  $P=0.0332$ ).

Figura 20. Correlación ANGPTL-3 y C-HDL en mujeres posparto.

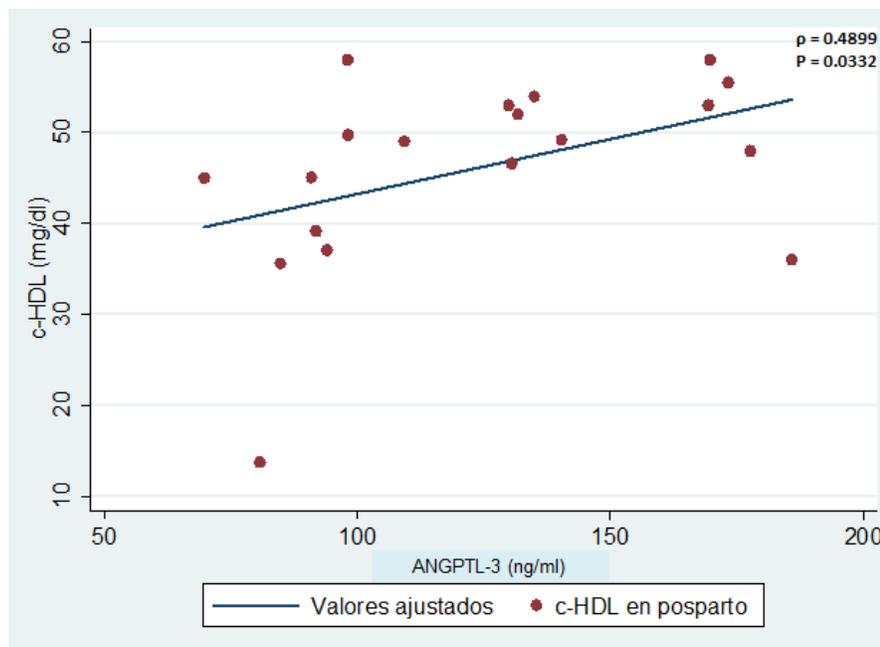


Tabla 16. Correlaciones con ANGPTL-3 en posparto mediante coeficiente de correlación de Spearman.

Variable	ANGPTL-3	P
Edad (años)	-0,0994	>0,05
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	0,1088	>0,05
Colesterol total (mg/dL)	0.0579	>0,05
C-HDL (mg/dL)	0,4899	0,0332
C-LDL (mg/dL)	-0,2719	>0,05
C-VLDL (mg/dL)	0,2071	>0,05
Triglicéridos (mg/dL)	0,1877	>0,05

---

Glucemia basal (mg/dL)	0,1726	>0,05
HOMA-IR	0,0316	>0,05
Índice Triglicéridos-Glucosa	0,2088	>0,05
Razón Triglicéridos/C-HDL	-0,1860	>0,05
Peso	0.136	>0,05
PCR (mg/dL)	-0.05	>0,05



## 5. Discusión

Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer estudio que determina el comportamiento de los niveles séricos de ANGPTL-3 durante la gestación sana y con preeclampsia leve.

En las pacientes no gestantes no se encontraron diferencias de los niveles de ANGPTL-3 entre las fases folicular y lútea del ciclo menstrual. Teniendo en cuenta que los principales factores que ha reportado la literatura que influyen en la expresión y las concentraciones de ANGPTL-3 son la insulina y la leptina no se esperaba diferencias significativas entre estos dos resultados (128,129).

Durante la gestación sana se observó una disminución importante de los niveles plasmáticos de ANGPTL-3 en el primer trimestre de la gestación, con significancia estadística con respecto a los valores de las mujeres no gestantes. Esto puede ser explicado por el aumento de la sensibilidad a la insulina que se produce en el primer trimestre de la gestación, demostrado en estudios animales y humanos por menores requerimientos de insulina en los clamp euglicémicos y la disminución de la dosis de insulina en paciente con DM1 durante este periodo. Los niveles incrementados de adiponectina podrían explicar la disminución de las concentraciones de ANGPTL-3 secundario a una disminución en la expresión hepática de esta proteína mediada por la insulina (44,45,54,128,129).

En el segundo trimestre no hay un cambio significativo de los niveles de ANGPTL-3, sin embargo en el tercer trimestre hay un aumento importante de estos niveles que puede ser explicado por la producción de las hormonas placentarias como el lactógeno placentario, la hPGH, cortisol, los estrógenos y la hiperleptinemia (con resistencia a la leptina) que van en incremento con un pico hacia el final de la gestación y que causan resistencia en las vías intracelulares de la insulina, pudiendo explicar el aumento de la

expresión de ANGPTL-3 y el aumento de los niveles plasmáticos de esta proteína. Concuera con la fase catabólica de la gestación en la que el aumento de la resistencia a la insulina promueve un estado de lipolisis para aportar los nutrientes al feto en crecimiento (48-51). Sin embargo, los niveles no alcanzan a retornar a los niveles de ANGPTL-3 de mujeres no gestantes.

El descenso de los niveles de ANGPTL-3 durante el primer trimestre de la gestación debería liberar a la LPL de la inhibición fisiológica y mirándolo de una manera simple, disminuir las concentraciones de triglicéridos plasmáticos, sin embargo, esto no ocurre ya que los triglicéridos aumentan paulatinamente a lo largo de los tres trimestres de la gestación, al igual que las otras lipoproteínas. Esto implica que son otros factores diferentes a la ANGPTL-3 los que regulan la actividad de la LPL durante la gestación como el aumento de la sensibilidad a la insulina y el aumento de la leptina, que inhiben la producción de ANGPTL-3 hepática y el aumento de los estrógenos que inhiben directamente la actividad de la LPL (158,159), asociado a la hiperfagia producida por la progesterona lo que explica el cambio en el perfil lipídico en la gestación temprana y que la disminución de los niveles de ANGPTL-3 simplemente es una liberación del efecto de esta proteína sobre la LPL para que pueda ser regulada por los otros factores con el fin de cumplir su rol fisiológico en cada etapa de la gestación. Por otra parte se podría tener en cuenta que el ELISA usado en este estudio detecta la proteína completa de ANGPTL-3 y que la fracción activa de esta proteína es la N-terminal, la cual se puede encontrar libre en plasma al igual que la fracción C-terminal, por lo que podríamos estar midiendo una proteína inactiva que al ser clivada por convertasas a su forma N-terminal o al unirse y formar un complejo con ANGPTL-8 y cambiar su conformación aumente la inhibición de la LPL (160), explicando mejor los cambios en el perfil lipídico. Sin embargo, hasta el momento esto no se ha podido demostrar.

En el segundo y tercer trimestre a pesar del aumento de la resistencia a linsulina comparada con los estados no gestante y posparto, los niveles de ANGPTL-3 siguen siendo menores con significancia estadística. Se debe tener en cuenta que la resistencia a la insulina de la gestación es diferente a la que se produce en el paciente obeso. Como se observa en este estudio, el HOMA-IR más alto fue el de las gestantes con preeclampsia leve en el segundo trimestre con 2.78, levemente por encima de lo que se considera positivo para resistencia a la insulina y en la mayoría de las mediciones fue

normal. Este índice es menor al que se encuentra generalmente en los pacientes obesos con resistencia clínica a la insulina o Diabetes Mellitus, en quienes el HOMA puede llegar a ser hasta el doble o el triple. En un estudio japonés con pacientes no obesos y no diabéticos el tercio más alto iniciaba con un HOMA-IR de 5.6 y se asociaba a disglucemia, en otro estudio donde se tomaron pacientes caucásicos sin diabetes y sin obesidad, los pacientes con IMC entre 25 y 30 tenían un HOMA-IR promedio de 4.93 (DS 2.96) y en una población colombiana de hombres jóvenes con promedio de 24 años de edad sin diabetes se encontró que quienes tenían un IMC promedio 22 tenían un HOMA-IR con mediana de 1.56 (RIC 1.01-2.03), mientras que en obesos con IMC promedio de 38 la mediana de HOMA-IR fue de 5.77 (RIC 3.99-7.7) (161–163).

Teniendo en cuenta los datos anteriores, la resistencia a la insulina de la paciente en gestación es diferente a la del obeso desde la misma medición del HOMA-IR. Se sabe que la gestación produce un estado de hiperinsulinemia asociado a resistencia a la insulina que va progresando, sin embargo, la resistencia a la insulina periférica causada por las diferentes hormonas contrarreguladoras, placentarias especialmente, pueden no llevar a un mismo estado de resistencia a la insulina hepática, lo cual se evidencia también en que la glucemia basal de la gestante no tiene diferencias entre el primer y tercer trimestre. De acuerdo con esto el efecto de la hiperinsulinemia puede continuar inhibiendo la producción hepática de ANGPTL-3 lo que explicaría porque no llegan los valores de la gestación tardía a igualar los niveles de las no gestantes y el posparto.

Esta disminución causada por los mecanismos previamente explicados, “libera” del control de la ANGPTL-3 a la LPL, para que pueda cumplir el rol necesario en cada etapa gestacional y de manera específica en cada tejido (oxidativo y no oxidativo) regulada por hormonas placentarias y no placentarias cuyo objetivo es permitir un buen aporte energético al feto en formación. Se observa entonces en este estudio como durante la gestación se libera a la LPL del control de la ANGPTL-3, permitiendo en los primeros trimestres donde los niveles son más bajos una preferencia por la acción de la LPL en los tejidos no oxidativos y posteriormente por el estado de resistencia a la insulina, hiperleptinemia, entre otros, se privilegia la acción de la LPL en los tejidos oxidativos y principalmente en placenta y glándula mamaria, como se ha evidenciado en estudios previos (48,61-64,118).

Como sucedió en otros estudios realizados en población general no gestante (145,146), no se encontraron correlaciones fuertes ni significativas, entre ANGPTL-3 con los niveles de triglicéridos y los índices de resistencia a la insulina. Sin embargo, también similar a lo encontrado en las referencias citadas se encontró asociación positiva con los niveles de colesterol total y de C-LDL en especial en las pacientes con preeclampsia

En las gestantes se encontraron correlaciones estadísticamente significativas con otros componentes del perfil lipídico, lo cual se había reportado previamente en pacientes no gestantes y concuerda con los hallazgos de estudios genéticos poblacionales (145-148). Estas correlaciones se dieron predominantemente en el grupo de las mujeres con preeclampsia leve, a pesar de tener características basales similares y no tener diferencias ni en los niveles del perfil lipídico ni en los niveles de ANGPTL-3. Finalmente queda la duda de la influencia de los otros miembros de la familia de angiopoyetinas como la ANGPTL-8 que parece tener una relación importante con la actividad de la ANGPTL-3 y cuyos niveles podrían tener una relación importante si se toma en cuenta el modelo que involucra a la ANGPTL-3, 4 y 8 en el control del metabolismo de los triglicéridos (135,138,139).

## 6. Limitaciones

Dentro de las limitaciones del presente estudio se encuentran:

- La información de los niveles de ANGPTL-3 en no gestantes es en pacientes diferentes de las pacientes gestantes y posparto. Habría sido ideal tener los niveles de la misma cohorte de la gestación.

- 
- La muestra de pacientes es pequeña por lo que puede haber problemas de poder para encontrar diferencias y asociaciones entre las variables que se propusieron, pudiendo haber asociaciones no demostradas en este estudio entre los niveles de ANGPTL-3 y otras variables con plausibilidad biológica pero no encontradas en este estudio.
  - No se tiene un grupo de comparación con pacientes con preeclampsia severa en quienes los triglicéridos elevados son un factor de riesgo documentado. El grupo de preeclampsia leve no tiene diferencias en los niveles de ANGPTL-3 por trimestre comparado con la gestación normal, las cuales podrían aparecer en estudios con una muestra más grande o con un espectro de enfermedad más severo.
  - No se evaluaron gestantes con DMG el cual puede ser también un desenlace importante teniendo en cuenta las implicaciones de la ANGPTL-3 en el metabolismo de los carbohidratos y el importante papel regulador de la insulina y la leptina en la expresión y actividad de esta.
  - No se tienen niveles de ANGPTL-8 que en algunos estudios ha demostrado controlar la actividad de la ANGPTL-3 y que podrían tener influencia importante en las asociaciones propuestas si se tiene en cuenta el modelo de interacción propuesto para la ANGPTL-3, 4 y 8.
  - Debido al número de pruebas estadísticas de correlación hay la posibilidad de que algunas de las correlaciones significativas estadísticamente sean producto de error tipo 1 y en realidad producto del azar.

## 7. Conclusiones y recomendaciones

ANGPTL-3 es una proteína producida por el hígado que regula de manera importante el metabolismo lipídico al inhibir potentemente la LPL. Durante la gestación, tanto sana como con preeclampsia leve se observa una disminución significativa de los niveles plasmáticos de ANGPTL-3, mucho más importante en el primer trimestre y que aumentan en el segundo y tercer trimestre sin llegar a alcanzar los niveles de pacientes no gestantes o posparto, quienes presentan niveles más elevados, pero sin diferencias entre fase lútea o folicular y entre no gestante o posparto. Tampoco hay diferencias entre los niveles de ANGPTL-3 en ningún trimestre entre las gestantes sanas y con preeclampsia leve. Este es el primer estudio hasta la fecha en describir el comportamiento de los niveles plasmáticos de ANGPTL-3 durante la gestación, tanto sana como con preeclampsia leve. La caída de los niveles de ANGPTL-3 mediada probablemente por la sensibilidad a la insulina libera a la LPL de la inhibición de la ANGPTL-3 para poder ser regulada por otras hormonas, placentarias y no placentarias, con el fin de organizar el metabolismo energético de la gestación en sus diferentes fases. La hiperinsulinemia del embarazo tardío y la producción placentaria de hormonas contrarreguladoras inducen un estado de resistencia a la insulina periférico, pero probablemente con menos efecto en el hígado lo que mantiene niveles bajos de ANGPTL-3 a lo largo de la gestación.

Durante la gestación sana se encontró correlación débil estadísticamente significativa de los niveles de ANGPTL-3 con niveles de glucosa en primer trimestre negativa y en segundo trimestre positiva, sin otras correlaciones bioquímicas o antropométricas. Sin embargo, en la gestación con preeclampsia leve se encontró correlación positiva con C-LDL en los tres trimestres, colesterol total en primer y segundo trimestre y C-HDL solo en el primer trimestre. Contrario a lo esperado, las correlaciones más importantes no fueron con los triglicéridos ni los índices de resistencia a la insulina sino como el C-LDL, C-HDL y colesterol total, lo que indica y evidencia el complejo control metabólico de los triglicéridos en la gestación en el cual múltiples hormonas placentarias y no placentarias intervienen en la regulación del metabolismo lipídico, es llamativo que estas correlaciones se presentan en las pacientes con preeclampsia y no en las gestantes sanas.

La evidencia del comportamiento de la ANGPTL-3 durante la gestación sana y con preeclampsia hace parte de los primeros pasos para determinar la importancia esta proteína tanto en la homeostasis metabólica gestacional como en su posible rol en la fisiopatología de enfermedades como la preeclampsia o la DMG y considerarlas como posibles blancos terapéuticos en el futuro. Con este fin se recomienda que un próximo estudio pueda incluir una muestra más grande, que las pacientes gestantes sean las mismas a quienes se les haga el seguimiento posparto y que se incluya un espectro más amplio de enfermedad como preeclampsia severa y DMG.

## 8. Referencias bibliográficas

1. Feingold KR, Grunfeld C. Lipids: a key player in the battle between the host and microorganisms. *J Lipid Res* [Internet]. 2012 Dec [cited 2019 Apr 28];53(12):2487–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23075464>
2. Ramasamy I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2019 Apr 28];52(12):1695–727. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23940067>
3. Schumaker VN. Lipoproteins, apolipoproteins, and lipases [Internet]. Academic Press; 1994 [cited 2019 Apr 28]. 459 p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/advances-in-protein-chemistry/vol/45/suppl/C>
4. Helkin A, Stein JJ, Lin S, Siddiqui S, Maier KG, Gahtan V. Dyslipidemia Part 1 — Review of Lipid Metabolism and Vascular Cell Physiology. *Vasc Endovascular Surg* [Internet]. 2016 Feb 16 [cited 2019 Apr 28];50(2):107–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26983667>
5. Jia L, Betters JL, Yu L. Niemann-pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2011 [cited 2019 Apr 28];73:239–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20809793>
6. Wang J, Mitsche MA, Lütjohann D, Cohen JC, Xie X-S, Hobbs HH. Relative roles of ABCG5/ABCG8 in liver and intestine. *J Lipid Res* [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 Apr 28];56(2):319–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25378657>
7. Wang TY, Liu M, Portincasa P, Wang DQ-H. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 2013 Nov [cited 2019 Apr 28];43(11):1203–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24102389>
8. Garg A, editor. *Dyslipidemias* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2015 [cited 2019 Apr 28]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-60761-424-1>
9. deGoma EM. Lomitapide for the management of homozygous familial hypercholesterolemia. *Rev Cardiovasc Med* [Internet]. 2014 [cited 2019 Apr 28];15(2):109–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25051128>
10. Sadur CN, Eckel RH. Insulin stimulation of adipose tissue lipoprotein lipase. Use of the euglycemic clamp technique. *J Clin Invest* [Internet]. 1982 May [cited 2019 Apr 28];69(5):1119–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7040473>
11. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg H. *Williams textbook of endocrinology* [Internet]. [cited 2019 Apr 29]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/book/9780323297387/williams-textbook-of-endocrinology>
12. Jameson JL, De Groot LJ, de Kretser DM, Giudice LC, Grossman AB, Melmed S,

- et al. Lipoprotein Metabolism and the Treatment of Lipid Disorders. *Endocrinol Adult Pediatr* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2019 Apr 29];715-736.e7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032318907100041X>
13. Fisher EA, Khanna NA, McLeod RS. Ubiquitination regulates the assembly of VLDL in HepG2 cells and is the committing step of the apoB-100 ERAD pathway. *J Lipid Res* [Internet]. 2011 Jun [cited 2019 Apr 29];52(6):1170–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21421992>
  14. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2011 Sep [cited 2019 Apr 29];22(9):353–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21616678>
  15. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* [Internet]. 1997 May 2 [cited 2019 Apr 29];89(3):331–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9150132>
  16. Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, Tontonoz P. LXR Regulates Cholesterol Uptake Through Idol-Dependent Ubiquitination of the LDL Receptor. *Science* (80- ) [Internet]. 2009 Jul 3 [cited 2019 Apr 29];325(5936):100–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19520913>
  17. Chaudhary R, Garg J, Shah N, Sumner A. PCSK9 inhibitors: A new era of lipid lowering therapy. *World J Cardiol* [Internet]. 2017 Feb 26 [cited 2019 Apr 29];9(2):76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28289523>
  18. Yvan-Charvet L, Wang N, Tall AR. Role of HDL, ABCA1, and ABCG1 transporters in cholesterol efflux and immune responses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2019 Apr 29];30(2):139–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19797709>
  19. ZHOU L, LI C, GAO L, WANG A. High-density lipoprotein synthesis and metabolism (Review). *Mol Med Rep* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2019 Apr 29];12(3):4015–21. Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2015.3930>
  20. Mabuchi H, Nohara A, Inazu A. Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) Deficiency and CETP Inhibitors. *Mol Cells* [Internet]. 2014 Nov [cited 2019 Apr 29];37(11):777–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25410905>
  21. Trigatti BL. SR-B1 and PDZK1. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2017 Apr [cited 2019 Apr 29];28(2):201–8. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00041433-201704000-00016>
  22. Marques LR, Diniz TA, Antunes BM, Rossi FE, Caperuto EC, Lira FS, et al. Reverse Cholesterol Transport: Molecular Mechanisms and the Non-medical Approach to Enhance HDL Cholesterol. *Front Physiol* [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 29];9:526. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29867567>
  23. Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin Receptor as a Key Player in Healthy

- Longevity and Obesity-Related Diseases. *Cell Metab* [Internet]. 2013 Feb 5 [cited 2019 May 2];17(2):185–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23352188>
24. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2019 May 2];7(8):941–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11479627>
  25. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2019 May 2];7(8):947–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11479628>
  26. Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kaneko K, Okazaki Y, et al. Adiponectin suppresses hepatic SREBP1c expression in an AdipoR1/LKB1/AMPK dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2009 Apr 24 [cited 2019 May 2];382(1):51–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19254698>
  27. Holland WL, Miller RA, Wang Z V, Sun K, Barth BM, Bui HH, et al. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. *Nat Med* [Internet]. 2011 Jan 26 [cited 2019 May 2];17(1):55–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21186369>
  28. Yoon MJ, Lee GY, Chung J-J, Ahn YH, Hong SH, Kim JB. Adiponectin Increases Fatty Acid Oxidation in Skeletal Muscle Cells by Sequential Activation of AMP-Activated Protein Kinase, p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$ . *Diabetes* [Internet]. 2006 Sep [cited 2019 May 2];55(9):2562–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16936205>
  29. Civitarese AE, Ukropcova B, Carling S, Hulver M, DeFronzo RA, Mandarino L, et al. Role of adiponectin in human skeletal muscle bioenergetics. *Cell Metab* [Internet]. 2006 Jul [cited 2019 May 2];4(1):75–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16814734>
  30. Qiao L, Zou C, van der Westhuyzen DR, Shao J. Adiponectin Reduces Plasma Triglyceride by Increasing VLDL Triglyceride Catabolism. *Diabetes* [Internet]. 2008 Jul 1 [cited 2019 May 2];57(7):1824–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18375436>
  31. Schneider JG, von Eynatten M, Schiekofer S, Nawroth PP, Dugi KA. Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity in vivo. *Diabetes Care* [Internet]. 2005 Sep [cited 2019 May 2];28(9):2181–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123487>
  32. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med* [Internet]. 2010 Jan 19 [cited 2019 May 4];152(2):93–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20083828>
  33. Pan WW, Myers MG. Leptin and the maintenance of elevated body weight. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2018 Jan 11 [cited 2019 May 4];19(2):95–105. Available

- from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrn.2017.168>
34. Flak JN, Myers MG. Minireview: CNS Mechanisms of Leptin Action. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2019 May 4];30(1):3–12. Available from: <https://academic.oup.com/mend/article/30/1/3/2526351>
  35. Geerling JJ, Boon MR, Kooijman S, Parlevliet ET, Havekes LM, Romijn JA, et al. Sympathetic nervous system control of triglyceride metabolism: novel concepts derived from recent studies. *J Lipid Res* [Internet]. 2014 Feb [cited 2019 May 4];55(2):180–9. Available from: <http://www.jlr.org/lookup/doi/10.1194/jlr.R045013>
  36. Huynh FK, Neumann UH, Wang Y, Rodrigues B, Kieffer TJ, Covey SD. A role for hepatic leptin signaling in lipid metabolism via altered very low density lipoprotein composition and liver lipase activity in mice. *Hepatology* [Internet]. 2013 Feb [cited 2019 May 4];57(2):543–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22941940>
  37. Huang W, Dedousis N, Bandi A, Lopaschuk GD, O'Doherty RM. Liver Triglyceride Secretion and Lipid Oxidative Metabolism Are Rapidly Altered by Leptin in *Vivo*. *Endocrinology* [Internet]. 2006 Mar [cited 2019 May 4];147(3):1480–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16339207>
  38. Muoio DM, Dohm GL, Fiedorek FT, Tapscott EB, Coleman RA, Dohn GL. Leptin directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. *Diabetes* [Internet]. 1997 Aug [cited 2019 May 4];46(8):1360–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9231663>
  39. Minokoshi Y, Kim Y-B, Peroni OD, Fryer LGD, Müller C, Carling D, et al. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* [Internet]. 2002 Jan 17 [cited 2019 May 4];415(6869):339–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11797013>
  40. Picard F, Richard D, Huang Q, Deshaies Y. Effects of leptin adipose tissue lipoprotein lipase in the obese ob/ob mouse. *Int J Obes Relat Metab Disord* [Internet]. 1998 Nov [cited 2019 May 4];22(11):1088–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9822947>
  41. Huynh FK, Neumann UH, Wang Y, Rodrigues B, Kieffer TJ, Covey SD. A role for hepatic leptin signaling in lipid metabolism via altered very low density lipoprotein composition and liver lipase activity in mice. *Hepatology* [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2019 May 4];57(2):543–54. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.26043>
  42. Stern JH, Rutkowski JM, Scherer PE. Adiponectin, Leptin, and Fatty Acids in the Maintenance of Metabolic Homeostasis through Adipose Tissue Crosstalk. *Cell Metab* [Internet]. 2016 May [cited 2019 May 4];23(5):770–84. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413116301620>
  43. Ramos MP, Crespo-Solans MD, del Campo S, Cacho J, Herrera E. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. *Am J Physiol Metab* [Internet]. 2003 Aug [cited 2019 May 4];285(2):E318–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12700161>

44. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1991 Dec [cited 2019 May 4];165(6 Pt 1):1667–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1750458>
45. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression during insulin infusion in normal pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1992 Oct [cited 2019 May 4];167(4 Pt 1):913–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1415425>
46. García-Patterson A, Gich I, Amini SB, Catalano PM, de Leiva A, Corcoy R. Insulin requirements throughout pregnancy in women with type 1 diabetes mellitus: three changes of direction. *Diabetologia* [Internet]. 2010 Mar 15 [cited 2019 May 4];53(3):446–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20013109>
47. Murphy SP, Abrams BF. Changes in energy intakes during pregnancy and lactation in a national sample of US women. *Am J Public Health* [Internet]. 1993 Aug [cited 2019 May 4];83(8):1161–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8342727>
48. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasunción MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res* [Internet]. 1996 Feb [cited 2019 May 4];37(2):299–308. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9026528>
49. Martineau MG, Raker C, Dixon PH, Chambers J, Machirori M, King NM, et al. The Metabolic Profile of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy Is Associated With Impaired Glucose Tolerance, Dyslipidemia, and Increased Fetal Growth. *Diabetes Care* [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 May 4];38(2):243–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25504029>
50. Pujol E, Proenza A, Lladó I, Roca P. Pregnancy Effects on Rat Adipose Tissue Lipolytic Capacity are Dependent on Anatomical Location. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2005 [cited 2019 May 4];16(4–6):229–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16301822>
51. Herrera E, Desoye G. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2019 May 4];26(2):109–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26351960>
52. Schubring C, Englaro P, Siebler T, Blum WF, Demirakca T, Kratzsch J, et al. Longitudinal Analysis of Maternal Serum Leptin Levels during Pregnancy, at Birth and Up To Six Weeks after Birth: Relation to Body Mass Index, Skinfolds, Sex Steroids and Umbilical Cord Blood Leptin Levels. *Horm Res Paediatr* [Internet]. 1998 [cited 2019 May 4];50(5):276–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9873196>
53. Tessier DR, Ferraro ZM, Gruslin A. Role of leptin in pregnancy: Consequences of maternal obesity. *Placenta* [Internet]. 2013 Mar [cited 2019 May 4];34(3):205–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332215>

54. Fuglsang J, Skjaerbaek C, Frystyk J, Flyvbjerg A, Ovesen P. Short communication: A longitudinal study of serum adiponectin during normal pregnancy. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2005 Dec 5 [cited 2019 May 4];113(1):110–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16398779>
55. Aye ILMH, Rosario FJ, Powell TL, Jansson T. Adiponectin supplementation in pregnant mice prevents the adverse effects of maternal obesity on placental function and fetal growth. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2015 Oct 13 [cited 2019 May 4];112(41):12858–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26417088>
56. Nien JK, Mazaki-Tovi S, Romero R, Erez O, Kusanovic JP, Gotsch F, et al. Plasma adiponectin concentrations in non-pregnant, normal and overweight pregnant women. *J Perinat Med* [Internet]. 2007 [cited 2019 May 4];35(6):522–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17919116>
57. Mazurkiewicz JC, Watts GF, Warburton FG, Slavin BM, Lowy C, Koukkou E. Serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins in pregnant non-diabetic patients. *J Clin Pathol* [Internet]. 1994 Aug [cited 2019 May 4];47(8):728–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7962626>
58. Sattar N, Greer IA, Loudon J, Lindsay G, McConnell M, Shepherd J, et al. Lipoprotein Subfraction Changes in Normal Pregnancy: Threshold Effect of Plasma Triglyceride on Appearance of Small, Dense Low Density Lipoprotein <sup>1</sup>. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1997 Aug [cited 2019 May 4];82(8):2483–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9253322>
59. DESOYE G, SCHWEDITSCH MO, PFEIFFER KP, ZECHNER R, KOSTNER GM. Correlation of Hormones with Lipid and Lipoprotein Levels During Normal Pregnancy and Postpartum\*. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1987 Apr 1 [cited 2019 May 4];64(4):704–12. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-64-4-704>
60. Wiznitzer A, Mayer A, Novack V, Sheiner E, Gilutz H, Malhotra A, et al. Association of lipid levels during gestation with preeclampsia and gestational diabetes mellitus: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2009 Nov [cited 2019 May 4];201(5):482.e1-482.e8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19631920>
61. Wong B, Ooi TC, Keely E. Severe gestational hypertriglyceridemia: A practical approach for clinicians. *Obstet Med* [Internet]. 2015 Dec [cited 2019 May 4];8(4):158–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27512474>
62. Goldberg AS, Hegele RA. Severe Hypertriglyceridemia in Pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012 Aug 1 [cited 2019 May 4];97(8):2589–96. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2012-1250>
63. DESOYE G, SCHWEDITSCH MO, PFEIFFER KP, ZECHNER R, KOSTNER GM. Correlation of Hormones with Lipid and Lipoprotein Levels During Normal Pregnancy and Postpartum\*. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1987 Apr [cited 2019 May 4];64(4):704–12. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3546352>
64. Reichen J, Karlaganis G, Kern F. Cholesterol synthesis in the perfused liver of pregnant hamsters. *J Lipid Res* [Internet]. 1987 Sep [cited 2019 May 4];28(9):1046–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3309106>
  65. Herrera E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2000 Mar [cited 2019 May 4];54 Suppl 1:S47-51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10805038>
  66. Woollett LA. Maternal cholesterol in fetal development: transport of cholesterol from the maternal to the fetal circulation. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2005 Dec 1 [cited 2019 May 4];82(6):1155–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16332646>
  67. Loke DFM, Viegas OAC, Kek LP, Rauff M, Thai AC, Ratnam SS. Lipid Profiles during and after Normal Pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* [Internet]. 1991 [cited 2019 May 4];32(3):144–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1756992>
  68. Gratacós E, Casals E, Sanllehy C, Cararach V, Alonso PL, Fortuny A. Variation in lipid levels during pregnancy in women with different types of hypertension. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 1996 Jan 1 [cited 2019 May 4];75(10):896–901. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3109/00016349609055024>
  69. ENQUOBAHRIE D. Maternal plasma lipid concentrations in early pregnancy and risk of preeclampsia\*1. *Am J Hypertens* [Internet]. 2004 Jul [cited 2019 May 4];17(7):574–81. Available from: <https://academic.oup.com/ajh/article-lookup/doi/10.1016/j.amjhyper.2004.03.666>
  70. Spracklen CN, Smith CJ, Saftlas AF, Robinson JG, Ryckman KK. Maternal hyperlipidemia and the risk of preeclampsia: a meta-analysis. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2019 May 4];180(4):346–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24989239>
  71. Villa PM, Laivuori H, Kajantie E, Kaaja R. Free fatty acid profiles in preeclampsia. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids* [Internet]. 2009 Jul [cited 2019 May 4];81(1):17–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19497719>
  72. Viñals M, Martínez-González J, Badimon JJ, Badimon L. HDL-Induced Prostacyclin Release in Smooth Muscle Cells Is Dependent on Cyclooxygenase-2 (Cox-2). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 1997 Dec [cited 2019 May 4];17(12):3481–8. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.ATV.17.12.3481>
  73. Shankar SS, Steinberg HO. FFAs: do they play a role in vascular disease in the insulin resistance syndrome? *Curr Diab Rep* [Internet]. 2005 Feb [cited 2019 May 4];5(1):30–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15663914>
  74. Jarvie E, Hauguel-de-Mouzon S, Nelson SM, Sattar N, Catalano PM, Freeman DJ. Lipotoxicity in obese pregnancy and its potential role in adverse pregnancy outcome and obesity in the offspring: Figure 1. *Clin Sci* [Internet]. 2010 Aug 1 [cited

- 2019 May 4];119(3):123–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20443782>
75. KAAJA R, TIKKANEN M, VIINIKKA L, YLIKORKALA O. Serum lipoproteins, insulin, and urinary prostanoid metabolites in normal and hypertensive pregnant women. *Obstet Gynecol* [Internet]. 1995 Mar [cited 2019 May 4];85(3):353–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7862371>
  76. Ray J, Diamond P, Singh G, Bell C. Brief overview of maternal triglycerides as a risk factor for pre-eclampsia. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2006 Apr [cited 2019 May 4];113(4):379–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16553649>
  77. Hahn PF. ABOLISHMENT OF ALIMENTARY LIPEMIA FOLLOWING INJECTION OF HEPARIN. *Science* [Internet]. 1943 Jul 2 [cited 2019 May 9];98(2531):19–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17747326>
  78. Camps L, Reina M, Llobera M, Bengtsson-Olivecrona G, Olivecrona T, Vilaró S. Lipoprotein lipase in lungs, spleen, and liver: synthesis and distribution. *J Lipid Res* [Internet]. 1991 Dec [cited 2019 May 9];32(12):1877–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1816319>
  79. He P-P, Jiang T, OuYang X-P, Liang Y-Q, Zou J-Q, Wang Y, et al. Lipoprotein lipase: Biosynthesis, regulatory factors, and its role in atherosclerosis and other diseases. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2018 May [cited 2019 May 9];480:126–37. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898118300676>
  80. Doolittle MH, Ehrhardt N, Péterfy M. Lipase maturation factor 1: structure and role in lipase folding and assembly. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2019 May 9];21(3):198–203. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20224398>
  81. Sha H, Sun S, Francisco AB, Ehrhardt N, Xue Z, Liu L, et al. The ER-Associated Degradation Adaptor Protein Sel1L Regulates LPL Secretion and Lipid Metabolism. *Cell Metab* [Internet]. 2014 Sep 2 [cited 2019 May 9];20(3):458–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25066055>
  82. Klinger SC, Glerup S, Raarup MK, Mari MC, Nyegaard M, Koster G, et al. SorLA regulates the activity of lipoprotein lipase by intracellular trafficking. *J Cell Sci* [Internet]. 2011 Apr 1 [cited 2019 May 9];124(7):1095–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21385844>
  83. Klinger SC, Højland A, Jain S, Kjolby M, Madsen P, Svendsen AD, et al. Polarized trafficking of the sorting receptor SorLA in neurons and MDCK cells. *FEBS J* [Internet]. 2016 Jul [cited 2019 May 9];283(13):2476–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27192064>
  84. Spillmann D, Lookene A, Olivecrona G. Isolation and Characterization of Low Sulfated Heparan Sulfate Sequences with Affinity for Lipoprotein Lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Aug 18 [cited 2019 May 9];281(33):23405–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16782967>

85. Davies BSJ, Beigneux AP, Barnes RH, Tu Y, Gin P, Weinstein MM, et al. GPIHBP1 Is Responsible for the Entry of Lipoprotein Lipase into Capillaries. *Cell Metab* [Internet]. 2010 Jul 7 [cited 2019 May 9];12(1):42–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20620994>
86. Liu J, Afroza H, Rader DJ, Jin W. Angiopoietin-like Protein 3 Inhibits Lipoprotein Lipase Activity through Enhancing Its Cleavage by Proprotein Convertases. *J Biol Chem* [Internet]. 2010 Sep 3 [cited 2019 May 9];285(36):27561–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20581395>
87. Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2014 Jul [cited 2019 May 9];1841(7):919–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24721265>
88. Meyers NL, Larsson M, Olivecrona G, Small DM. A Pressure-dependent Model for the Regulation of Lipoprotein Lipase by Apolipoprotein C-II. *J Biol Chem* [Internet]. 2015 Jul 17 [cited 2019 May 9];290(29):18029–44. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M114.629865>
89. Westerterp M, de Haan W, Berbée JFP, Havekes LM, Rensen PCN. Endogenous apoC-I increases hyperlipidemia in apoE-knockout mice by stimulating VLDL production and inhibiting LPL. *J Lipid Res* [Internet]. 2006 Jun [cited 2019 May 9];47(6):1203–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16537968>
90. Lambert DA, Smith LC, Pownall H, Sparrow JT, Nicolas JP, Gotto AM. Hydrolysis of phospholipids by purified milk lipoprotein lipase. Effect of apoprotein CII, CIII, A and E, and synthetic fragments. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2000 Jan 20 [cited 2019 May 9];291(1):19–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10612714>
91. Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, et al. Apolipoprotein AV Accelerates Plasma Hydrolysis of Triglyceride-rich Lipoproteins by Interaction with Proteoglycan-bound Lipoprotein Lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2005 Jun 3 [cited 2019 May 9];280(22):21553–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15774484>
92. Lafferty MJ, Bradford KC, Erie DA, Neher SB. Angiopoietin-like Protein 4 Inhibition of Lipoprotein Lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2013 Oct 4 [cited 2019 May 9];288(40):28524–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23960078>
93. Yau M, Wang Y, Lam KSL, Zhang J, Wu D, Xu A. A Highly Conserved Motif within the NH<sub>2</sub>-terminal Coiled-coil Domain of Angiopoietin-like Protein 4 Confers Its Inhibitory Effects on Lipoprotein Lipase by Disrupting the Enzyme Dimerization. *J Biol Chem* [Internet]. 2009 May 1 [cited 2019 May 9];284(18):11942–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19246456>
94. Dijk W, Kersten S. Regulation of lipid metabolism by angiopoietin-like proteins. *Curr Opin Lipidol* [Internet]. 2016 Jun [cited 2019 May 9];27(3):249–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27023631>
95. Tikka A, Jauhainen M. The role of ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism. *Endocrine* [Internet]. 2016 May 11 [cited 2019 May 9];52(2):187–93. Available

from: <http://link.springer.com/10.1007/s12020-015-0838-9>

96. Quagliarini F, Wang Y, Kozlitina J, Grishin N V., Hyde R, Boerwinkle E, et al. Atypical angiopoietin-like protein that regulates ANGPTL3. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2012 Nov 27 [cited 2019 May 9];109(48):19751–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23150577>
97. Hollenberg CH. Effect of nutrition on activity and release of lipase from rat adipose tissue. *Am J Physiol Content [Internet]*. 1959 Sep [cited 2019 May 11];197(3):667–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14402661>
98. Vidal-Puig A, Jimenez-Liñan M, Lowell BB, Hamann A, Hu E, Spiegelman B, et al. Regulation of PPAR gamma gene expression by nutrition and obesity in rodents. *J Clin Invest [Internet]*. 1996 Jun 1 [cited 2019 May 11];97(11):2553–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8647948>
99. Ladu MJ, Kapsas H, Palmer WK. Regulation of lipoprotein lipase in adipose and muscle tissues during fasting. *Am J Physiol Integr Comp Physiol [Internet]*. 1991 May [cited 2019 May 11];260(5):R953–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2035708>
100. Enerbäck S, Semb H, Tavernier J, Bjursell G, Olivecrona T. Tissue-specific regulation of guinea pig lipoprotein lipase; effects of nutritional state and of tumor necrosis factor on mRNA levels in adipose tissue, heart and liver. *Gene [Internet]*. 1988 Apr 15 [cited 2019 May 11];64(1):97–106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3396878>
101. Sukonina V, Lookene A, Olivecrona T, Olivecrona G. Angiopoietin-like protein 4 converts lipoprotein lipase to inactive monomers and modulates lipase activity in adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2006 Nov 14 [cited 2019 May 11];103(46):17450–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17088546>
102. Lichtenstein L, Berbée JFP, van Dijk SJ, van Dijk KW, Bensadoun A, Kema IP, et al. Angptl4 Upregulates Cholesterol Synthesis in Liver via Inhibition of LPL - and HL-Dependent Hepatic Cholesterol Uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol [Internet]*. 2007 Nov [cited 2019 May 11];27(11):2420–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17761937>
103. Yamada T, Ozaki N, Kato Y, Miura Y, Oiso Y. Insulin downregulates angiopoietin-like protein 4 mRNA in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun [Internet]*. 2006 Sep 8 [cited 2019 May 11];347(4):1138–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16870142>
104. van Raalte D, Brands M, Serlie M, Mudde K, Stienstra R, Sauerwein H, et al. Angiopoietin-Like Protein 4 is Differentially Regulated by Glucocorticoids and Insulin in vitro and in vivo in Healthy Humans. *Exp Clin Endocrinol Diabetes [Internet]*. 2012 Sep 12 [cited 2019 May 11];120(10):598–603. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22972030>
105. Pilegaard H, Saltin B, Neuffer PD. Effect of short-term fasting and refeeding on transcriptional regulation of metabolic genes in human skeletal muscle. *Diabetes*

- [Internet]. 2003 Mar [cited 2019 May 11];52(3):657–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12606505>
106. Farese R V, Yost TJ, Eckel RH. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans. *Metabolism* [Internet]. 1991 Feb [cited 2019 May 11];40(2):214–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1988780>
  107. Miles JM, Park YS, Walewicz D, Russell-Lopez C, Windsor S, Isley WL, et al. Systemic and forearm triglyceride metabolism: fate of lipoprotein lipase-generated glycerol and free fatty acids. *Diabetes* [Internet]. 2004 Mar [cited 2019 May 11];53(3):521–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14988233>
  108. Pedersen SB, Bak JF, Holck P, Schmitz O, Richelsen B. Epinephrine stimulates human muscle lipoprotein lipase activity in vivo. *Metabolism* [Internet]. 1999 Apr [cited 2019 May 11];48(4):461–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10206438>
  109. Hamilton MT, Etienne J, McClure WC, Pavey BS, Holloway AK. Role of local contractile activity and muscle fiber type on LPL regulation during exercise. *Am J Physiol Metab* [Internet]. 1998 Dec [cited 2019 May 11];275(6):E1016–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9843744>
  110. Catoire M, Alex S, Paraskevopoulos N, Mattijssen F, Evers-van Gogh I, Schaart G, et al. Fatty acid-inducible ANGPTL4 governs lipid metabolic response to exercise. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2014 Mar 18 [cited 2019 May 11];111(11):E1043–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24591600>
  111. Price TM, O'Brien SN, Welter BH, George R, Anandjiwala J, Kilgore M. Estrogen regulation of adipose tissue lipoprotein lipase--possible mechanism of body fat distribution. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1998 Jan [cited 2019 May 11];178(1 Pt 1):101–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9465811>
  112. Del Prado M, Villalpando S, Gordillo J, Hernández-Montes H. A High Dietary Lipid Intake during Pregnancy and Lactation Enhances Mammary Gland Lipid Uptake and Lipoprotein Lipase Activity in Rats. *J Nutr* [Internet]. 1999 Aug 1 [cited 2019 May 11];129(8):1574–8. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/129/8/1574/4721855>
  113. Grigor MR, Warren SM. Dietary regulation of mammary lipogenesis in lactating rats. *Biochem J* [Internet]. 1980 Apr 15 [cited 2019 May 11];188(1):61–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7406889>
  114. Ling C, Svensson L, Odén B, Weijdegård B, Edén B, Edén S, et al. Identification of Functional Prolactin (PRL) Receptor Gene Expression: PRL Inhibits Lipoprotein Lipase Activity in Human White Adipose Tissue. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2003 Apr [cited 2019 May 11];88(4):1804–8. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2002-021137>
  115. Otway S, Robinson DS. The significance of changes in tissue clearing-factor lipase activity in relation to the lipaemia of pregnancy. *Biochem J* [Internet]. 1968 Feb 1 [cited 2019 May 12];106(3):677–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5639924>

116. Hamosh M, Clary TR, Chernick SS, Scow RO. Lipoprotein lipase activity of adipose and mammary tissue and plasma triglyceride in pregnant and lactating rats. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 1970 Sep 8 [cited 2019 May 12];210(3):473–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5528598>
117. Knopp RH, Boroush MA, O'Sullivan JB. Lipid metabolism in pregnancy. II. Postheparin lipolytic activity and hypertriglyceridemia in the pregnant rat. *Metabolism* [Internet]. 1975 Apr 1 [cited 2019 May 12];24(4):481–93. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0026049575900736>
118. Herrera E, Lasunción MA, Gomez-Coronado D, Aranda P, López-Luna P, Maier I. Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1988 Jun [cited 2019 May 12];158(6 Pt 2):1575–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3287929>
119. Nilsson-Ehle P, Tornqvist H, Belfrage P. Rapid determination of lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. *Clin Chim Acta* [Internet]. 1972 Dec 1 [cited 2019 May 12];42(2):383–90. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009898172901039>
120. Rebuffé-Scrive M, Enk L, Crona N, Lönnroth P, Abrahamsson L, Smith U, et al. Fat cell metabolism in different regions in women. Effect of menstrual cycle, pregnancy, and lactation. *J Clin Invest* [Internet]. 1985 Jun 1 [cited 2019 May 12];75(6):1973–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4008649>
121. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasunción MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res* [Internet]. 1996 Feb [cited 2019 May 12];37(2):299–308. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9026528>
122. Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, Yoshida K, Ando Y, Koishi R, et al. ANGPTL3 Decreases Very Low Density Lipoprotein Triglyceride Clearance by Inhibition of Lipoprotein Lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2002 Sep 13 [cited 2019 May 18];277(37):33742–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097324>
123. Fu Z, Yao F, Abou-Samra AB, Zhang R. Lipasin, thermoregulated in brown fat, is a novel but atypical member of the angiopoietin-like protein family. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2013 Jan 18 [cited 2019 May 18];430(3):1126–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23261442>
124. Ono M, Shimizugawa T, Shimamura M, Yoshida K, Noji-Sakikawa C, Ando Y, et al. Protein Region Important for Regulation of Lipid Metabolism in Angiopoietin-like 3 (ANGPTL3). *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Oct 24 [cited 2019 May 18];278(43):41804–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12909640>
125. Schjoldager KT-BG, Vester-Christensen MB, Bennett EP, Lavery SB, Schwientek T, Yin W, et al. O-Glycosylation Modulates Proprotein Convertase Activation of Angiopoietin-like Protein 3. *J Biol Chem* [Internet]. 2010 Nov 19 [cited 2019 May 18];285(47):36293–303. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20837471>
126. Inaba T, Matsuda M, Shimamura M, Takei N, Terasaka N, Ando Y, et al. Angiopietin-like Protein 3 Mediates Hypertriglyceridemia Induced by the Liver X Receptor. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Jun 13 [cited 2019 May 18];278(24):21344–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12672813>
  127. Kaplan R, Zhang T, Hernandez M, Gan FX, Wright SD, Waters MG, et al. Regulation of the angiopietin-like protein 3 gene by LXR. *J Lipid Res* [Internet]. 2003 Jan [cited 2019 May 18];44(1):136–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12518032>
  128. Fugier C, Tousaint J-J, Prieur X, Plateroti M, Samarut J, Delerive P. The Lipoprotein Lipase Inhibitor *ANGPTL3* Is Negatively Regulated by Thyroid Hormone. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Apr 28 [cited 2019 May 18];281(17):11553–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505486>
  129. Shimamura M, Matsuda M, Ando Y, Koishi R, Yasumo H, Furukawa H, et al. Leptin and insulin down-regulate angiopietin-like protein 3, a plasma triglyceride-increasing factor. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2004 Sep 24 [cited 2019 May 18];322(3):1080–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15336575>
  130. Cinkajzlová A, Mráz M, Lacinová Z, Kloučková J, Kaválková P, Kratochvílová H, et al. Angiopietin-like protein 3 and 4 in obesity, type 2 diabetes mellitus, and malnutrition: the effect of weight reduction and realimentation. *Nutr Diabetes* [Internet]. 2018 Dec 25 [cited 2019 May 18];8(1):21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29695708>
  131. Nidhina Haridas PA, Soronen J, Sädevirta S, Mysore R, Quagliarini F, Pasternack A, et al. Regulation of Angiopietin-Like Proteins (ANGPTLs) 3 and 8 by Insulin. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Oct [cited 2019 May 22];100(10):E1299–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26204133>
  132. Ono M, Shimizugawa T, Shimamura M, Yoshida K, Noji-Sakikawa C, Ando Y, et al. Protein region important for regulation of lipid metabolism in angiopietin-like 3 (ANGPTL3): ANGPTL3 is cleaved and activated in vivo. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Oct 24 [cited 2019 May 19];278(43):41804–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12909640>
  133. Shan L, Yu X-C, Liu Z, Hu Y, Sturgis LT, Miranda ML, et al. The angiopietin-like proteins ANGPTL3 and ANGPTL4 inhibit lipoprotein lipase activity through distinct mechanisms. *J Biol Chem* [Internet]. 2009 Jan 16 [cited 2019 May 19];284(3):1419–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19028676>
  134. Shimamura M, Matsuda M, Yasumo H, Okazaki M, Fujimoto K, Kono K, et al. Angiopietin-Like Protein3 Regulates Plasma HDL Cholesterol Through Suppression of Endothelial Lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2007 Feb [cited 2019 May 19];27(2):366–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17110602>
  135. Quagliarini F, Wang Y, Kozlitina J, Grishin N V., Hyde R, Boerwinkle E, et al.

- Atypical angiopoietin-like protein that regulates ANGPTL3. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2012 Nov 27 [cited 2019 May 19];109(48):19751–6. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1217552109>
136. Chi X, Britt EC, Shows HW, Hjelmaas AJ, Shetty SK, Cushing EM, et al. ANGPTL8 promotes the ability of ANGPTL3 to bind and inhibit lipoprotein lipase. *Mol Metab [Internet]*. 2017 Oct 1 [cited 2019 May 19];6(10):1137–49. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212877817303307>
  137. Wang Y, Quagliarini F, Gusarova V, Gromada J, Valenzuela DM, Cohen JC, et al. Mice lacking ANGPTL8 (Betatrophin) manifest disrupted triglyceride metabolism without impaired glucose homeostasis. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2013 Oct 1 [cited 2019 May 19];110(40):16109–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24043787>
  138. Zhang R. The ANGPTL3-4-8 model, a molecular mechanism for triglyceride trafficking. *Open Biol [Internet]*. 2016 Apr 6 [cited 2019 May 19];6(4):150272. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27053679>
  139. Kersten S, Lichtenstein L, Steenbergen E, Mudde K, Hendriks HFJ, Hesselink MK, et al. Caloric Restriction and Exercise Increase Plasma ANGPTL4 Levels in Humans via Elevated Free Fatty Acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol [Internet]*. 2009 Jun [cited 2019 May 19];29(6):969–74. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.108.182147>
  140. Jiao Y, Le Lay J, Yu M, Naji A, Kaestner KH. Elevated Mouse Hepatic Betatrophin Expression Does Not Increase Human  $\beta$ -Cell Replication in the Transplant Setting. *Diabetes [Internet]*. 2014 Apr 1 [cited 2019 May 19];63(4):1283–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24353178>
  141. Ando Y, Shimizugawa T, Takeshita S, Ono M, Shimamura M, Koishi R, et al. A decreased expression of angiopoietin-like 3 is protective against atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Lipid Res [Internet]*. 2003 Jun [cited 2019 May 19];44(6):1216–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12671033>
  142. Zhang R. Lipasin, a novel nutritionally-regulated liver-enriched factor that regulates serum triglyceride levels. *Biochem Biophys Res Commun [Internet]*. 2012 Aug 10 [cited 2019 May 19];424(4):786–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22809513>
  143. Koishi R, Ando Y, Ono M, Shimamura M, Yasumo H, Fujiwara T, et al. Angptl3 regulates lipid metabolism in mice. *Nat Genet [Internet]*. 2002 Feb 14 [cited 2019 May 22];30(2):151–7. Available from: <http://www.nature.com/articles/ng814z>
  144. Köster A, Chao YB, Mosior M, Ford A, Gonzalez-DeWhitt PA, Hale JE, et al. Transgenic Angiopoietin-Like (Angptl)4 Overexpression and Targeted Disruption of Angptl4 and Angptl3: Regulation of Triglyceride Metabolism. *Endocrinology [Internet]*. 2005 Nov [cited 2019 May 22];146(11):4943–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16081640>
  145. Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, Yoshida K, Ando Y, Koishi R, et al. ANGPTL3 decreases very low density lipoprotein triglyceride clearance by

- inhibition of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2002 Sep 13 [cited 2019 May 22];277(37):33742–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097324>
146. Mehta N, Qamar A, Qu L, Qasim AN, Mehta NN, Reilly MP, et al. Differential Association of Plasma Angiopoietin-Like Proteins 3 and 4 With Lipid and Metabolic Traits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2014 May [cited 2019 May 19];34(5):1057–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626437>
147. Robciuc MR, Tahvanainen E, Jauhiainen M, Ehnholm C. Quantitation of serum angiopoietin-like proteins 3 and 4 in a Finnish population sample. *J Lipid Res* [Internet]. 2010 Apr [cited 2019 May 19];51(4):824–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19826106>
148. Musunuru K, Pirruccello JP, Do R, Peloso GM, Guiducci C, Sougnez C, et al. Exome Sequencing, *ANGPTL3* Mutations, and Familial Combined Hypolipidemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Dec 2 [cited 2019 May 22];363(23):2220–7. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1002926>
149. Romeo S, Yin W, Kozlitina J, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Hobbs HH, et al. Rare loss-of-function mutations in *ANGPTL* family members contribute to plasma triglyceride levels in humans. *J Clin Invest* [Internet]. 2009 Jan [cited 2019 May 22];119(1):70–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19075393>
150. Robciuc MR, Maranghi M, Lahikainen A, Rader D, Bensadoun A, Öörni K, et al. *Angptl3* Deficiency Is Associated With Increased Insulin Sensitivity, Lipoprotein Lipase Activity, and Decreased Serum Free Fatty Acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2013 Jul [cited 2019 May 22];33(7):1706–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23661675>
151. Abu-Farha M, Al-Khairi I, Cherian P, Chandy B, Sriraman D, Alhubail A, et al. Increased *ANGPTL3*, 4 and *ANGPTL8/betatrophin* expression levels in obesity and T2D. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2016 Dec 13 [cited 2019 May 22];15(1):181. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27733177>
152. Muniyappa R, Abel BS, Asthana A, Walter MF, Cochran EK, Remaley AT, et al. Metreleptin therapy lowers plasma angiopoietin-like protein 3 in patients with generalized lipodystrophy. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2017 Mar [cited 2019 May 22];11(2):543–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28502512>
153. Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clin Chim Acta* [Internet]. 1987 Dec 1 [cited 2019 Jun 10];170(2–3):S13–32. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009898187901513>
154. American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2013 Nov [cited 2019 Jun 10];122(5):1122–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24150027>
155. Potter JM, Nestel PJ. The hyperlipidemia of pregnancy in normal and complicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1979 Jan 15 [cited 2019 Jun

- 10];133(2):165–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/217273>
156. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* [Internet]. 1985 Jul [cited 2019 Jun 10];28(7):412–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3899825>
157. Abbasi F, Reaven GM. Comparison of two methods using plasma triglyceride concentration as a surrogate estimate of insulin action in nondiabetic subjects: triglycerides  $\times$  glucose versus triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol. *Metabolism* [Internet]. 2011 Dec [cited 2019 Jun 10];60(12):1673–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21632070>
158. Ellis GS, Lanza-Jacoby S, Gow A, Kendrick Z V. Effects of estradiol on lipoprotein lipase activity and lipid availability in exercised male rats. *J Appl Physiol* [Internet]. 1994 Jul [cited 2019 Sep 21];77(1):209–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7961235>
159. Hamosh M, Hamosh P. The effect of estrogen on the lipoprotein lipase activity of rat adipose tissue. *J Clin Invest* [Internet]. 1975 May [cited 2019 Sep 21];55(5):1132–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1123425>
160. Tarugi P, Bertolini S, Calandra S. Angiopoietin-like protein 3 (ANGPTL3) deficiency and familial combined hypolipidemia. Vol. 33, *Journal of Biomedical Research*. Nanjing Medical University and Chungbuk National University Press; 2019. p. 73–81.
161. Sandoval-Alzate HF, Agudelo-Zapata Y, González-Clavijo AM, Poveda NE, Espinel-Pachón CF, Escamilla-Castro JA, et al. Serum Galanin Levels in Young Healthy Lean and Obese Non-Diabetic Men during an Oral Glucose Tolerance Test. *Sci Rep* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 19];6:31661. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27550417>
162. Gonzalez-Cantero J, Martin-Rodriguez JL, Gonzalez-Cantero A, Arrebola JP, Gonzalez-Calvin JL. Insulin resistance in lean and overweight non-diabetic Caucasian adults: Study of its relationship with liver triglyceride content, waist circumference and BMI. *PLoS One* [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 19];13(2):e0192663. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29425212>
163. Hirata T, Higashiyama A, Kubota Y, Nishimura K, Sugiyama D, Kadota A, et al. HOMA-IR Values are Associated With Glycemic Control in Japanese Subjects Without Diabetes or Obesity: The KOBE Study. *J Epidemiol* [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 19];25(6):407–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26005064>



