Electroforesis de lipoproteinas séricas en pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica

Rebeca A. Fernández Carriera*, Sergio González García, Rosa F. Lara Rodríguez, Irma Vicente Valdés y Alina González-Quevedo Monteagudo.

Instituto de Neurología y Neurocirugía, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 4 de abril de 2007. Aceptado: 18 de septiembre de 2007.

Palabras clave: lipoproteínas, electroforesis, enfermedad cerebrovascular, colesterol.
Key words: lipoproteins, electrophoresis, cerebrovascular disease, cholesterol.

RESUMEN. Las hiperlipoproteinemias se han asociado a la presencia de enfermedad cerebrovascular y se ha señalado la utilidad de la electroforesis para clasificar los desórdenes lípidicos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el patrón electroforético de las lipoproteínas en pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica. Se seleccionaron 101 individuos sanos (42 hombres y 59 mujeres) y 103 pacientes (66 hombres y 37 mujeres) con enfermedad cerebrovascular isquémica (ECVI), ambos en un intervalo de edad de 40 a 79 años. Los grupos de estudio se separaron según la edad (mayores y menores de 60 años) y el sexo. El fraccionamiento de las lipoproteínas séricas se realizó en cuatro capas de geles de disco de poliacrilamida y se cuantificó cada una de las fracciones por densitometría. El patrón de lipoproteínas séricas presentó alteraciones en los pacientes portadores de ECVI, coincidiendo en ambos sexos la disminución de α-lipoproteína con un incremento de pre-β-lipoproteína. No obstante, se encontró que en el sexo masculino se añadió una disminución de β-lipoproteína con incremento de IDL, mientras que en las mujeres no hubo variaciones de la β-lipoproteína y la IDL se elevó en el grupo de más edad. Se concluyó que el patrón de lipoproteínas séricas se asoció a la ocurrencia de un evento cerebrovascular isquémico agudo. Se apreciaron diferencias con respecto al sexo, posiblemente en relación con el intercambio metabólico entre VLDL y LDL.

ABSTRACT. Hyperlipoproteinemias have been associated with the appearance of cerebrovascular disease and the convenience of employing electrophoresis for the classification of lipid disorders has been established. The aim of this work was to study the electrophoretic patterns of lipoproteins in patients with ischemic cerebrovascular disease. A total of 101 healthy individuals (42 men and 59 women) and 103 patients (66 men and 37 women) with ischemic cerebrovascular disease (ICVD) were selected, both groups within an age range of 40 – 79 years. They were subdivided according to age (above and below 60 years of age) and gender. Lipoprotein separation was carried out in four polyacrylamide gel layers and each one was quantified by densitometry. Serum lipoprotein pattern was altered in ICVD. Both men and women had decreased α-lipoprotein with an increase of pre-β-lipoprotein. Nevertheless, in males decreased β-lipoprotein and elevated IDL were added, while in women there were no variations of β-lipoprotein levels and the IDL fraction was increased only in the older group. It was concluded that the serum lipoprotein pattern was associated with the occurrence of ICVD, with a differential pattern in male and female patients, possibly related with differences in the metabolic exchange between VLDL and LDL.

INTRODUCCION

Las diferentes clases de lipoproteínas plasmáticas han sido individualizadas principalmente mediante dos técnicas: la ultracentrifugación por flotación y la electroforesis. Han sido clasificadas en: quilomicrones, lipoproteína prebeta o de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas beta o de baja densidad (LDL), y lipoproteínas alfa o de alta densidad (HDL). Además de esta clasificación, se han logrado distinguir subclases de fracciones lipoproteicas. En el grupo de las LDL se han encontrado la LDL_1 (beta-1) y LDL_2 (beta-2), y partículas de HDL ricas en colesterol (alfa-1, alfa-2, prealfa-1 y prealfa-2), así como partículas HDL pobres en colesterol, prebeta-1 y alfa-3.[1] La electroforesis de disco en gel de poliacrilamida fue descrito por primera vez por Ornstein[2] y Davis[3] y fue adaptada para separar lipoproteínas en plasma desde 1965 por varios autores.[4-10] La utilidad de la electroforesis para clasificar los desórdenes lípidicos, especialmente en la clasificación de las hiperlipoproteinemias, es bien conocida, y han sido utilizadas las diferentes movilidades y porcentajes de las lipoproteínas para cuantificar el riesgo de enfermedades vasculares y de aterosclerosis. [11,12]

Debido a la disponibilidad de los geles de poliacrilamida, la posibilidad de cuantificación de las distintas

Correspondencia:

**Lic. Rebeca A. Fernández Carriera, Departamento de Neutoquímica, Instituto de Neurología y Neurocirugía, Calle 29 y D, Vedado C.P. 10400, Ciudad de La Habana, Cuba.*
Correo electrónico: rebeca@infomed.sld.cu

Tabla 1. Características generales de los grupos de estudio

Grupos	Hombres		Mujeres	
	40 a 59 años	60 a 79 años	40 a 59 años	60 a 79 años
Pacientes (n = 103)	24	42	16	21
Controles (n = 101)	24	18	40	19

fracciones por densitometría y la utilidad diagnostica de la técnica, se ha llegado a la conclusión de que la electroforesis en geles de poliacrilamida es un ensayo con grandes posibilidades de uso en el diagnóstico de los desórdenes lipídicos.

Se ha determinado que las alteraciones lipoproteicas intervienen en la patología isquémica cerebral a través de un mecanismo aterosclerótico,[11] y de las distintas fracciones, las LDL son el grupo de partículas más aterogénicas, pudiendo ser su acumulación un factor de riesgo modificable para el ictus y la enfermedad coronaria isquémica.[12] Su aterogenicidad se basa en la acumulación de ellas en la íntima arterial, además de las modificaciones principalmente de tipo oxidativas, que éstas partículas experimentan en su estructura.[11,12]

Por otro lado, se ha postulado el papel protector y antiaterógenico de las HDL en el ictus trombótico, especialmente, de las subclases que no son ricas en lípidos HDL_1 (prebeta-1) y HDL_3 (alfa-3).[1,13] Este papel protector está basado en su participación en el transporte reverso del colesterol, en la disminución en la oxidación de las LDL, además de sus acciones antinflamatoria, antitrombótica, profibrinolítica y estabilizante del endotelio.[14,15]

En el presente trabajo se determinó el perfil lipoproteico en suero de pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica (ECVI), empleando la técnica de electroforesis de disco en gel de poliacrilamida con el fin de determinar el comportamiento de estas lipoproteínas en esta enfermedad y comprobar si está sujeto a cambios con la edad y el sexo de los individuos.

PACIENTES Y METODOS

Controles

Se seleccionaron 101 individuos supuestamente sanos (42 hombres y 59 mujeres) en un intervalo de edad de 40 a 79 años. Se tuvo en cuenta que no presentaran ninguna enfermedad que provoque disturbios en el metabolismo de los lípidos, ni que estuvieran sometidos a ningún tratamiento que afectara el metabolismo de los lípidos (drogas hipolipemiantes).

Pacientes

En el estudio participaron 103 pacientes (66 hombres y 37 mujeres) con diagnóstico de ECVI, en edades comprendidas entre 40 y 79 años. El estudio fue realizado de 2 a 3 meses después de haber sufrido el evento vascular agudo (Tabla 1).

Procedimientos

Controles y pacientes cumplieron el día anterior a la prueba una dieta sin grasa y después de 12 h de ayuno se les extrajeron 3 mL de sangre venosa para la obtención de suero. El estudio electroforético de las lipoproteínas se realizó el mismo día de la extracción. El fraccionamiento de las lipoproteínas séricas se realizó en cuatro capas de geles de disco de poliacrilamida por la técnica descrita por Magracheva;[16] en tubos de 70 mm de longitud y se agregaron los geles en el orden siguiente: gel 4 ó inferior 11,2 %, gel 3 (4,8 %), gel 2 (3,3 %), y el gel 1 que es el superior (2,5 %), el cual actúa como concentrador y los tres restantes son separadores de las lipoproteínas.

Cada muestra de suero fresco se tiñó con sudán negro 1 % en disolución de etilenglicol. Se aplicaron 20 μL a cada tubo y cada muestra se corrió por duplicado. Se utilizó regulador 5 mol/L Tris/0,038 M Glicina; pH = 8,3 para ambas cámaras electroforéticas durante 60 min a 2,5 mA por tubo. Se realizó el cálculo del porcentaje de cada fracción lipoproteica por densitometría en las 3 h siguientes a la terminación del proceso.

La figura 1 muestra una corrida de lipoproteínas en gel de poliacrilamida, en la que se pueden diferenciar las fracciones lipoproteicas.

Análisis estadístico

Los resultados de pacientes y controles se recogieron en una base de datos diseñada para este estudio y se realizó el procesamiento estadístico con el programa Statistica 6.0 para Windows. Se calcularon las medias y desviaciones estándar (DE) de las variables para cada uno de los grupos de estudio y se aplicó la prueba de homogeneidad de varianza. Se empleó la prueba t de Student para comparar las medias de los grupos en estudio. Los resultados se consideraron significativos para una $p < 0,05$.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se observó una disminución en la fracción α-lipoproteína en pacientes de ambos sexos con respecto a sus controles por sexo e intervalos de edad ($p < 0,05$). Al comparar pacientes y controles de un mismo género por grupo de edad no se encontraron diferencias significativas por la edad.

Los resultados demuestran una disminución de la fracción β-lipoproteína en pacientes masculinos para ambos grupos de edad respecto a sus controles de igual sexo e intervalo de edad (Tabla 3). No obstante, en el sexo femenino no se observaron variaciones de esta fracción en los pacientes con respecto a sus controles independientemente del grupo de edad. Al analizar la edad se observaron valores más elevados de esta fracción en los pacientes masculinos de 60 a 79 años con respecto al grupo de 40 a 59 años ($t = 4,136$; $p = 0,0002$). En los controles (ambos sexos) y en las pacientes del sexo femenino no se observaron diferencias significativas con la edad.

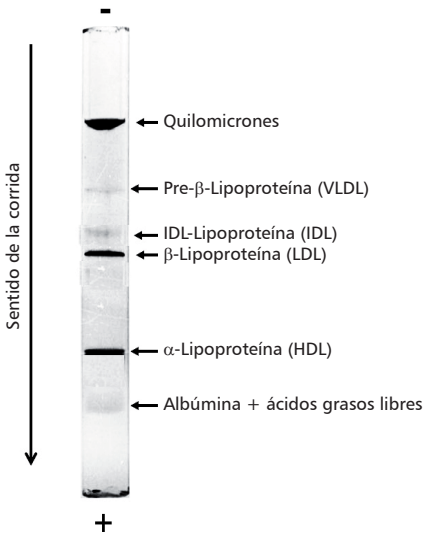

Fig. 1. *Electroforesis de lipoproteínas. En el origen se encuentran los quilomicrones y restos de colorante, en la interfase del gel 1 y 2 se encuentra la pre-beta (Pre-β o VLDL), en el gel 2 se encuentran las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), en la interfase del gel 2 y 3 está la beta (β o LDL) y en la interfase del gel 3 y 4 la alfa (α o HDL), en el gel 4 se encuentran la albúmina y ácidos libres.*

Tabla 2. Porcentaje de la fracción α-lipoproteína en pacientes según sexo e intervalos de edad.

Grupos	Edad			
	40 a 59 años		60 a 79 años	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
Controles	40,9 ± 3,9 (24)	44,4 ± 2,9 (16)	38,8 ± 5,7 (18)	43,3 ± 3,6 (19)
Pacientes	33,2 ± 3,6* (24)	37,7 ± 6,7* (40)	33,1 ± 3,0* (42)	38,5 ± 4,6* (21)

* p < 0.05 (comparación entre pacientes y controles). Entre paréntesis número de sujetos. Los resultados se expresan como (x ± DE).

Tabla 3. Porcentaje de la fracción β-lipoproteína en pacientes y controles según sexo e intervalo de edad.

Grupos	Edad			
	40 a 59 años		60 a 79 años	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
Controles	38,5 ± 2,4 (24)	37,1 ± 2,1 (16)	39,1 ± 3,3 (18)	35,7 ± 2,0 (19)
Pacientes	34,2 ± 2,5** (24)	36,8 ± 3,6 (40)	36,7 ± 2,1* (42)	36,9 ± 4,0 (21)

* p < 0,05; ** p < 0,005 (comparación entre pacientes y controles). Entre paréntesis número de sujetos. Los resultados se expresan como (x ± DE).

Tabla 4. Porcentaje de la fracción lipoproteína de densidad intermedia (IDL) en pacientes y controles según sexo e intervalo de edad.

Grupos	Edad			
	40 a 59 años		60 a 79 años	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
Controles	11,7 ± 1,4 (24)	9,9 ± 1,4 (16)	13,2 ± 2,2 (18)	12,4 ± 2,8 (19)
Pacientes	16,1 ± 2,4* (24)	13,0 ± 3,0* (40)	15,7 ± 1,9* (42)	11,4 ± 1,9 (21)

* p < 0,005 (comparación entre pacientes y controles). Entre paréntesis número de sujetos. Los resultados se expresan como (x ± DE).

Tabla 5. Porcentaje de la fracción pre-β-lipoproteína en pacientes y controles según sexo e intervalo de edad.

Grupos	Edad			
	40 a 59 años		60 a 79 años	
	Masculino	Femenino	Masculino	Femenino
Controles	8,0 ± 1,9 (24)	8,6 ± 1,7 (16)	9,0 ± 2,4 (18)	8,5 ± 1,7 (19)
Pacientes	16,8 ± 3,6* (24)	12,3 ± 4,1* (40)	14,5 ± 2,6* (42)	13,1 ± 3,2* (21)

* p < 0,005 (comparación entre pacientes y controles). Entre paréntesis número de sujetos. Los resultados se expresan como (x ± DE).

Se representaron de igual forma los porcentajes de IDL encontrados en pacientes y controles. Se observó un aumento (p < 0,05) de la fracción de IDL en los pacientes masculinos independientemente del grupo de edad (Tabla 4), mientras que en el sexo femenino solo hubo incremento para el intervalo de edad de 40 a 59 años, al compararlos con controles de edad y sexo correspondientes. Al comparar los pacientes de un mismo género según el grupo de edad no se encontraron diferencias significativas; sin embargo, en los controles se observaron porcentajes más elevados de IDL en el grupo de 60 a 79 años tanto en hombres como en mujeres (t = 2,696, p = 0,01 y t = 3,241, p = 0,003 respectivamente).

Se encontró un aumento significativo (p < 0,005) de la fracción pre-β lipoproteína en los cuatro grupos de pacientes estudiados, respecto a sus controles correspondientes (Tabla 5). Al analizar la edad se observaron valores más elevados en el grupo de 40 a 59 años que en el de 60 a 79 años (t = 2.750; p = 0,01). En los controles (ambos sexos) y en las pacientes del sexo femenino no se observaron diferencias significativas con la edad.

DISCUSION

La relación de las lípidos con la ECVI se mantiene siendo un tema controversial[11,17-19], a pesar de toda la evidencia fisiopatológica que asocia la acumulación de lípidos como sustrato del proceso de aterosclerosis y esta como desencadenante de eventos vasculares agudos; además de los resultados obtenidos en los estudios de prevención utilizando estatinas, que demuestran una disminución de los eventos isquémicos cerebrales de alrededor del 25 % con el empleo de estas drogas.[20, 21]

Los patrones electroforéticos de las distintas subfracciones lipídicas en las patologías isquémicas de base aterosclerótica han sido investigadas,[22-24] y específicamente en el infarto cerebral se han realizado estudios que asocian las diferentes fracciones lipídicas con estos eventos isquémicos y con la presencia de aterosclerosis carotídea.[25-29]

A la fracción α-lipoproteína se le ha adjudicado un papel protector y antiaterogénico en los eventos isquémicos.[22, 28] Yin y *col*.[26] reportaron disminución de la fracción alfa en pacientes con infarto cerebral, atribuyendo una mayor sensibilidad a esta variable con respecto a las concentraciones de HDL colesterol en sangre. Además, se han realizado estudios que asocian una disminución de las HDL con el infarto cerebral.[30,31] Los resultados encontrados en este estudio indican que la fracción α-lipoproteína se encuentra disminuida en los pacientes con ECVI independientemente del sexo

y de la edad de los mismos, lo cual coincide con lo reportado por otros autores.[26, 32, 33]

Shieh y *col*.[28] también reportaron una disminución de la fracción α o HDL en pacientes con ictus trombótico, disminución que fue correlacionada con un aumento significativo en las concentraciones de la fracción pre-β (VLDL). Por su parte Rossnev,[29] estudió el perfil lipoproteíco en pacientes con ECVI menores de 55 años y encontró un aumento en la fracción pre-β (VLDL), unida a una disminución de las HDL.

El papel desempeñado por la fracción β-lipoproteína en el proceso de aterosclerosis es bien conocido.[33-35] Sin embargo, existen numerosos estudios realizados en pacientes con ECVI en los que no se demostró un aumento de las LDL en sangre,[36,37] y trabajos con electroforesis en geles de poliacrilamida han encontrado que no todas las subfracciones de lipoproteínas beta son un factor de riesgo para la enfermedad isquémica, sino solo aquellas partículas beta que son pequeñas y densas.[25,27] En este estudio, se obtuvo una disminución en la fracción β-lipoproteína en los pacientes masculinos independientemente de la edad, que coincidió con un incremento de las fracciones IDL y pre-β. Esto puede estar asociado al aumento de la fracción IDL. Meyer y *col*.[38] refuerzan este criterio en su estudio, al encontrar una correlación inversa entre las concentraciones de IDL y LDL, lo que apoya la hipótesis de que las IDL son un intermediario metabólico entre las VLDL y las LDL. Además, también pudiera haber una transformación incompleta de la fracción pre-β-lipoproteína (aumentada en todos los grupos de pacientes) en β-lipoproteína, que podría explicar la disminución de la fracción β-lipoproteína. De manera que las elevadas concentraciones de fracción pre-beta, unidos a un aumento en la fracción IDL pueden ser causantes de una reducción en la fracción beta.

En el caso de las pacientes del sexo femenino se observó un patrón diferente al de los hombres: hubo disminución de la fracción α-lipoproteína e incremento de pre-β-lipoproteína (no relacionado con la edad al igual que en los hombres), pero no se observó disminución de la fracción β-lipoproteína en ninguno de los dos grupos de edad y la fracción IDL estaba incrementada solo en las pacientes menores de 60 años.

En los controles, el sexo no constituyó un elemento diferencial para los patrones electroforéticos de las lipoproteínas, mientras que la edad si influyó, observándose un mayor nivel de fracción IDL en los grupos de mayor edad para ambos sexos.

Así, pudiera ser que por alguna influencia hormonal, sobreañadida al proceso de la enfermedad, el metabolismo de las lipoproteínas en los pacientes con ECVI sea diferente en hombres y mujeres, sobre todo, en lo que respecta al intercambio metabólico entre VLDL y LDL.

Se puede concluir que el patrón de lipoproteínas séricas se asocia a la ocurrencia de un evento cerebrovascular isquémico agudo, coincidiendo en ambos sexos la disminución de α-lipoproteína con el incremento de pre-β-lipoproteína. No obstante, existe una diferencia entre hombres y mujeres y en las mujeres de más edad, posiblemente relacionada con el intercambio metabólico entre VLDL y LDL.

BIBLIOGRAFIA

1. Asztalos B.F., Collins D., Cupples L.A., Demissie S., *et al*. Value of high density lipoprotein (HDL) subpopulations in predicting recurrent cardiovascular events in the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 25,** 2185-91, 2005.
2. Orstein L. Disc electrophoresis. Part I. Background and theory. **Ann. NY Acad. Sci., 121**, 321, 1964.
3. Davis B.J. Disc electrophoresis Part II. Method and application to human serum proteins. **Ann. NY Acad. Sci., 121,** 204, 1964.
4. Narayan K.A., Narayan S. and Kummerow F.A. Disc electrophoresis of human serum lipoproteins. **Nature, 205,** 13, 1965.
5. Raymond S., Mile J.L. and Lee J.C. Lipoprotein patterns in acrylamide gel electrophoresis. **Biochim. Sci., 151**, 346, 1966.
6. Narayan K.A., Dudacek W.E. and Kummerow F.A. Disc electrphoresis of isolated rat serum lipoproteins. **Biochim. Biophys. Acta**, **125**, 581, 1966.
7. Narayan K.A., Creinin H.L. and Kummerow F.A. Disc electrophoresis of rat lipoproteins. **J. Lipid. Res., 7**, 150, 1966.
8. Narayan K.A. Human and rat serum protein, lipoproteins, ammonium persulfate, gel concentration and disc electrophoresis. **Microchem. J., 14**, 355, 1969.
9. Narayan K.A., Mary G.E.S. and Friedman H.P. Disc electrophoresis of subclasses of human serum low density lipoproteins. **Microchem. J., 14**, 235, 1969.
10. Muñiz N. Measurement of plasma lipoproteins by electrophoresis on polyacrylamide gel. **Clin. Chem., 23,** 1826, 1979.
11. Albucher J.F., Ferriers J., Ruidavets J.B., Guiraud-Chaurneil B., *et al*. Serum lipids in young patients with ischaemic stroke: a case control study. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 69,** 1, 29-33, 2000.
12. Landray M.J., Sagar G., Muskin J., Murray S., Holder R.L. and Lip G.Y. Association of atherogenic low-density lipoprotein subfractions with carotid atherosclerosis. **QJM, 91,** 345-351, 1998.
13. Shieh S.M., Shen M.M., Tsai W.J., Shinuan L.R. and Wang D.J. Serum lipids and lipoprotein abnormalities in patients with thrombotic stroke with exploring the protective role of LDL subfractions. **Proc. Natl. Sci. Counc. China B**., **9**, 398-304, 1985.
14. Van Kooten F., van Krimpen J., Dippel D.W., Hoogerbrugger N. and Koudstaal P.J. Lipoprotein (a) in patients with acute cerebral ischemia. **Stroke, 27, 1**231-5,1996.
15. Christopher R., Kailasanatha K.M., Nagaraja D. and Tripathi M. Case-control study of serum lipoprotein (a) and apolipoproteins *A-I y B* in stroke in the young. **Acta Neurol. Scand.**, **94**, 127-30, 1996.
16. Magracheva Y.J. Separation of lipoproteins from blood serum by disc electrophoresis in polyacrylamide gel. **Vopr. Med. Jimii.**, **19,** 652-655, 1973.
17. Okumura K., Iseki K., Wakugami K., Kimura Y., *et al*. Low serum cholesterol as a risk factor for hemorrhagic stroke in men: a community-based mass screening in Okinawa, Japan. **Jpn. Circ. J., 63,** 53-58, 1999.
18. Plehn J.F., Davis B.R., Sacks F.M., Rouleau J.L., *et al*. Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastin: the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) study. The CARE Investigators. **Circulation, 99,** 216-223,1999.
19. Prospective Studies Collaboration. Cholesterol, diastolic blood pressure, and stroke: 13.000 strokes in 450,000 people in 45 prospective cohorts. **Lancet, 346**,1647-53, 1995.
20. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomisen trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: the Scandinavan Simvastatin Survival Study Group (4S). **Lancet**, **344**, 1383-1389, 1994.
21. The long-term intervention with Pravastatin in the Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. **N. Engl. J. Med.**, **399**, 1349-157, 1998.
22. Streja D., Steiner G. and Kwiterovich P.O. Jr. Plasma high-density lipoproteins and ischemic heart disease. Studies in a large kindred with familial hypercho-lesterolemia. **Ann. Inter. Med., 89**, 871-880, 1979.

23. Mathew N.T., Davis D., Meyer J.S. and Chandar K. Hiperlipoproteinemia in occlusive cerebrovascular disease. **JAMA**, **232**, 262-266, 1975.
24. Heyman A., Nefager M.D. and Estas E.H. Jr. Serum cholesterol level in cerebral infarction. **Arch. Neurol., 5,** 264-268, 1961.
25. Liu X.N., Gao Y., Ye J., Liao Y.H., *et al.* Association of small, dense low density lipoprotein with stroke. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, **83**, 1939-42, 2003.
26. Yin J., Wang X.Y. and Zhang M. Changes on serum cholesterol, high density lipoprotein and serum lipoprotein electrophoretogram in senior patients with cerebral infarction. **Di Yi Jun Da Xue Bao, 23**, 844-6, 2003.
27. Landray M.J., Sagar G., Muskin J., Murray S., *et al*. Association of atherogenic low-density lipoprotein subfractions with carotid atherosclerosis. **QJM**, **91**, 345-51, 1998.
28. Shieh S.M., Shen M.M., Tsai W.J., Shiuan L.R. and Wang D.J. Serum lipids and lipoprotein abnormalities in patients with thrombotic stroke with exploring the protective role of HDL subfractions. **Proc. Natl. Sci. Counc. Repub. China B**., **9**, 298-304, 1985.
29. Rossner S., Kjellin K.G., Mettinger K.L., Siden A. and Soderstrom C.E. Dyslipoproteinemia in patients with ischemic cerebro-vascular disease: a study of stroke before the age of 55. **Atherosclerosis**, **30**, 199-209, 1978.
30. Horenstein R.B., Smith D.E. and Mosca L. Cholesterol predicts stroke mortality in the Women's Pooling Project. **Stroke**, **33**, 1863-8, 2002.
31. Lindenstrorn E., Boysen G. and Nyboe J. Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. **BMJ**, **309**, 11-15, 1994.
32. Debakan A.S., Stausing J.K. and Stevens N. Hyperlipoproteinemia and cerebral stroke. **Can. J. Neurol. Sci., 4,** 13-17, 1977.
33. Fruchart J.C., Nierman M.C., Stroes E.S., Kastelein J.J. and Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. **Circulation**, **109,** 15-19, 2004.
34. Choy P.C., Siow Y.L. and Mymin D. Lipids and atherosclerosis. **Biochem Cell Biol**, **82**, 212-24, 2004.
35. Carmena R., Duriez P. and Fruchart J.C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. **Circulation, 109,** III2-7, 2004.
36. Skoglund-Anderson C., Tang R., Bond M.G., de Faire U., Hansten A. and Karpe F. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. **Arterioscler. Throm. Vasc. Biol.**, **19**, 2422-2430, 1999.
37. Omata S., Yoshida N., Miyatake T., Sakamoto Y. and Sakurabayashi I. Decreased HDL cholesterol in patients with cerebrovascular disease. **Acta Neurol. Scand.**, **72**, 460-461, 1979.
38. Meyer B.J., Caslake M.J., McConnell M.M. and Packard C.J. Two subpopulations of intermediate density lipoprotein and their relationship to plasma triglyceride and cholesterol levels. **Atherosclerosis**, **15,** 355-362, 2000.

3er SIMPOSIO INTERNACIONAL DE MEDIO AMBIENTE

Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Estimados colegas:

El Centro de Investigaciones del Ozono tiene el gusto de invitarle a participar en el 3.Simposio Internacional de Medio Ambiente, el cual tendrá como sede La Habana, Cuba, del 7 al 10 de julio de 2008. Este encuentro será un marco propicio para intercambiar sobre temas de actualidad y de gran repercusión internacional relacionados con el medio ambiente, la calidad, la energía renovable y la economía ambiental.

El Simposio será organizado en conferencias magistrales, debates e intercambios orales.

Presidente Comité Organizador: Dr. Tomás Moreira Hernández
Secretaria Comité Organizador: Dra. Matilde López Torres
Secretaria Comité Científico: Dra. María del Carmen Espinosa Lloréns

Temas: Tratamiento de aguas, aguas residuales y residuos sólidos.
Energía renovable a partir de residuos.
Gestión ambiental y calidad.
Economía y medio ambiente.

Cuotas de inscripción: Delegados: 300,00 CUC
Acompañantes: 60,00 CUC

Fechas topes importantes: Inscripción y recepción de resúmenes: hasta 25 de enero de 2008.
Recepción de los trabajos completos: hasta 25 de marzo de 2008.

Para mayor información: medioambiente@cnic.edu.cu
http://www.ozono.cubaweb.cu
rrii@cnic.edu.cu

Centro de Investigaciones del Ozono,
Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Avenida 25 y calle 158, Playa, Ciudad de La Habana, Apartado Postal 6414, Código Postal 10600, Cuba.