

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 942**

51 Int. Cl.:

G01N 33/92

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2007 E 07742726 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2012 EP 2015077**

54 Título: **Método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar**

30 Prioridad:

01.05.2006 JP 2006127591

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.03.2013

73 Titular/es:

**DENKA SEIKEN CO., LTD. (100.0%)
1-1, Nihonbashi Muromachi 2-chome, Chuo-ku
Tokyo 103-8338 , JP**

72 Inventor/es:

ITOH, YASUKI

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 397 942 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para la detección y el diagnóstico de hiperlipidemia combinada familiar.

10 **Antecedentes de la técnica**

10 Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) desempeñan un papel principal en el transporte del colesterol en la sangre y son factores de riesgo para enfermedades arterioscleróticas. Se sabe que las lipoproteínas densas, pequeñas (a continuación en el presente documento, denominadas "LDL densas, pequeñas"), que tienen un tamaño de partícula particularmente pequeño entre las LDL y peso específico superior en comparación con las LDL convencionales, tienen capacidad inductora de arteriosclerosis a un nivel varias veces superior al de las LDL normales.

15 La hiperlipidemia combinada familiar (a continuación en el presente documento, denominada "HLCF") está basada en el fenotipo de tipo IIb, según la clasificación de la OMS de la hiperlipidemia por el tipo. La HLCF cambia a tipo IIa o IV debido a factores tales como la dieta. La hiperlipidemia familiar no presenta ningún tipo específico, de manera que se define como hiperlipidemia hereditaria que presenta diversos fenotipos incluyendo IIa, IIb y IV. La HLCF es un tipo de hiperlipidemia primaria que tiende a provocar enfermedades arterioscleróticas. Se dice que la frecuencia de HLCF es extremadamente alta, afectando aproximadamente a una de cada 100 personas y el 30% o más de los casos de HLCF provocan arteriopatías coronarias.

20 Se ha sugerido la presencia de LDL densas, pequeñas en muestras de sangre de pacientes con HLCF mediante análisis usando electroforesis (véase *Journal of Lipid Research* 2002; 43: 598-603; *Circulation* 2004; 109: 2980-2985; y *Research Report on Specified Diseases, Primary Hyperlipidemia, 2000*, Research Division of the Ministry of Health, Labour and Welfare (2000: 37-41)). La presencia de LDL densas, pequeñas se demuestra por el hecho de que el análisis de la imagen electroforética de una muestra de sangre usando un densímetro da como resultado 25,5 nm o menos como pico principal de LDL. Esto sugiere que la calidad de LDL es microparticulada. Además, en HLCF, se sintetizan excesivamente lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Por tanto, se ha sugerido que la apoproteína B está presente por tanto de manera excesiva con respecto a colesterol de LDL y entonces aumenta la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL (véase *Research Report on Specified Diseases, Primary hyperlipidemia, 2000*, Research Division of the Ministry of Health, Labour and Welfare (2000: 37-41)). En LDL densas, pequeñas, aunque disminuye el contenido (porcentaje) de colesterol en partículas de LDL, siempre está presente una molécula de apoproteína B en una molécula de una partícula de LDL. Por tanto, puede decirse que un aumento de la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL indica indirectamente la presencia de LDL densas, pequeñas.

30 Sin embargo, cuando aumentan las LDL de tamaños normales distintas de las LDL densas, pequeñas junto con LDL densas, pequeñas, la presencia de LDL densas, pequeñas no puede detectarse de manera precisa y específica con el método anterior, que implica hallar la calidad de las LDL. Esto puede dar como resultado un mal diagnóstico acerca de si la enfermedad de un sujeto es o no hiperlipidemia combinada familiar. Además, cuando sólo se usa el valor medido de apoproteína B, se realiza una evaluación con la inclusión de enfermedades sanguíneas hiper-residuales, dando como resultado una exactitud de detección baja.

35 Hirano *et al.* (*ARTERIOSCLEROSIS, THROMBOSIS, AND VASCULAR BIOLOGY* MAR 2004, vol. 24, n.º 3, marzo de 2004) muestran niveles aumentados de colesterol de LDL densas pequeñas (LDL-C) en hiperlipidemia combinada y sugieren la medición de LDL-C densas pequeñas para la detección de hiperlipidemia combinada familiar. Hirano *et al.*, sin embargo, no dan a conocer un nivel de punto de corte específico para el diagnóstico de hiperlipidemia combinada familiar.

50 **Descripción de la invención**55 **Objetos que van a lograrse mediante la invención**

Un objeto de la presente invención es proporcionar un buen método para la detección y el diagnóstico de hiperlipidemia combinada familiar.

60 **Medios para lograr los objetos**

65 Como resultado de estudios profundos, los presentes inventores han descubierto que los niveles de colesterol en LDL densas, pequeñas son extremadamente altos en muestras de pacientes con HLCF. Además, la medición del tamaño de las LDL mediante electroforesis convencional o cálculo de la razón del valor medido de apoproteína B con respecto a lo mismo de colesterol de LDL es oneroso en cuanto a tiempo y gasto. Sin embargo, según el

método de la presente invención, la detección de HLCF puede realizarse de manera sencilla.

Específicamente, la presente invención proporciona un método para la detección y el diagnóstico de hiperlipidemia combinada familiar midiendo el colesterol de LDL densas, pequeñas en una muestra de un paciente con HLCF.

5

Específicamente, la presente invención proporciona los siguientes métodos.

[1] Un método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar, que comprende medir la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas en una muestra recogida de un sujeto en el que la muestra es un suero o plasma y mediante el cual se determina si un sujeto va a verse afectado por hiperlipidemia combinada familiar cuando la concentración medida de colesterol de LDL densas, pequeñas en el suero o plasma es superior a 40 mg/dl, en el que el valor de punto de corte se determina produciendo una curva ROC.

10

[2] El método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar según [1], que comprende medir la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas en una muestra recogida de un paciente, muestra en la que el nivel de TG o LDL-C es normal.

15

[3] El método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar según [1] o [2], en el que la medición de la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas comprende:

20

una primera etapa de separar LDL densas, pequeñas de LDL distintas de las LDL densas, pequeñas en una muestra o eliminar colesterol en una muestra realizando una reacción para LDL distintas de las LDL densas, pequeñas; y

25

una segunda etapa de medir la concentración de colesterol en LDL densas, pequeñas tras la separación o eliminación de las LDL distintas de las LDL densas, pequeñas.

Efecto de la invención

30

Como en el ejemplo 1, los niveles de colesterol de LDL densas, pequeñas en un grupo de pacientes con HLCF eran claramente superiores a tales niveles en un grupo de sujetos sanos. Además, en el ejemplo 2, se midieron los índices lipídicos de muestras de pacientes con HLCF. Como resultado, se encontró que los niveles de TG son altos o se encontró que los niveles de LDL-C son altos, lo que sugiere que el tipo de hiperlipidemia difiere dependiendo del individuo. Sin embargo, los niveles de colesterol de LDL densas, pequeñas eran siempre altos en cualquier caso, lo que demuestra que puede detectarse HLCF de manera precisa mediante la medición de los niveles de colesterol de LDL densas, pequeñas.

35

Breve descripción de los dibujos

40

La figura 1 muestra los niveles medios de colesterol de LDL densas, pequeñas en un grupo de sujetos sanos y un grupo con HLCF.

La figura 2 muestra una curva ROC cuando se determinó que los niveles de colesterol de LDL densas, pequeñas para un grupo con HLCF y un grupo sin HLCF eran valores de punto de corte.

45

La figura 3 muestra los resultados de la comparación de un método para la detección de HLCF con el uso de un valor de LDL-C dp obtenido mediante el método de la presente invención como valor de punto de corte (figura 3A), un método basado en los tamaños de LDL (figura 3B), un método basado en las razones de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL (figura 3C) y un método basado en los tamaños de LDL o las razones de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL (figura 3D).

50

Mejores modos para llevar a cabo la invención

En la presente invención, se usa como muestra un suero o plasma.

55

Además, en la presente invención, se usó una concentración medida de colesterol de LDL densas, pequeñas para la detección el diagnóstico para discernir si un sujeto está afectado por HLCF o no.

60

Las LDL densas, pequeñas son, en general, una subfracción de una fracción de LDL, con un diámetro que oscila entre aproximadamente 22,0 nm y aproximadamente 25,5 nm y un peso específico que oscila entre 1,040 y 1,063. El motivo por el que las LDL se subfraccionan basándose en el tamaño de partícula es que las LDL pequeñas entre las LDL necesitan medirse por separado porque tales LDL con diámetros de partícula pequeños tienen una alta tendencia a inducir arteriosclerosis tal como arteriosclerosis coronaria y son superiores en malignidad a otras LDL. La distribución de diámetro y la de peso específico de LDL son secuenciales. Por tanto, es imposible determinar claramente que una LDL con un peso específico a o superior a un determinado nivel indica un grado de malignidad particularmente alto. Por tanto, el peso específico que oscila entre 1,040 y 1,063 descrito anteriormente no

65

5 constituye una característica establecida de LDL densas, pequeñas. El intervalo de peso específico se obtiene más bien dividiendo otro intervalo de peso específico entre 1,019 y 1,063 (ampliamente usado y establecido como el peso específico de LDL) en el punto medio. Por ejemplo, en otro informe, las LDL densas, pequeñas se fraccionan en el intervalo entre 1,044 y 1,060 (Atherosclerosis: 106 241-253 1994). El intervalo de peso específico que ha de emplearse para LDL densas, pequeñas difiere algo dependiendo de los investigadores. En todos los casos, la presencia de LDL densas, pequeñas está asociada con malignidad clínica cuando se realiza el fraccionamiento usando tales intervalos de peso específico.

10 Un método más antiguo como método para la medición de LDL densas, pequeñas es la electroforesis. La electroforesis es un método mediante el cual se mide la movilidad o el diámetro de partícula de LDL usando gel de poliacrilamida. Sin embargo, con la electroforesis, puede confirmarse la presencia de LDL densas, pequeñas, pero no se cuantifican componentes específicos (JAMA, 260, págs. 1917-21, 1988, Arteriosclerosis, 25, págs. 67-70, 1997). Además, otro método más antiguo es un método que implica medir el número de partículas de LDL usando RMN (Handbook of lipoprotein Testing, 2ª ed, Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds, págs. 609-623, AACC Press, Washington, DC, 2000). Este método se basa en la idea de que incluso cuando el peso de LDL total permanece inalterado, el número de partículas aumenta si las LDL se reducen en tamaño. Por tanto, el método pretende medir indirectamente los niveles de LDL densas, pequeñas, pero no pretende medir directamente un componente de una LDL densa, pequeña.

20 Los ejemplos de un método para medir colesterol de LDL densas, pequeñas incluyen un método de ultracentrifugación (por ejemplo, Atherosclerosis, 48 págs. 33-49, 1993; Atherosclerosis, 106, págs. 241-253, 1994), un método que implica la cuantificación del área de pico usando un densímetro tras electroforesis (Atherosclerosis, 125, págs. 231-42 1996) y un método que implica la segmentación de LDL usando HPLC y cuantificación de colesterol en fracciones de LDL densas, pequeñas (Handbook of lipoprotein Testing, 2ª ed, Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds págs. 647-669, AACC Press, Washington, DC, 2000). Otro ejemplo es un método que implica la tinción con lípidos de geles tras electroforesis en agarosa, la realización de análisis informático de los patrones de tinción, y por tanto la cuantificación de las lipoproteínas (publicación de patente japonesa (Kokai) n.º 2000-356641 A). El diagnóstico de HLCF puede realizarse mediante los métodos de medición anteriores por medio de la cuantificación del colesterol de LDL densas, pequeñas, sin embargo, estos métodos son malos en cuanto a facilidad y versatilidad y por tanto se usan con dificultad en sitios de inspección diaria. Además, cuando los valores medidos se usan para análisis informático, los valores son estimaciones halladas mediante cálculo y por tanto son problemáticos en cuanto a exactitud.

35 Los presentes inventores proporcionan un método que comprende separar LDL en LDL de tamaños normales y LDL densas, pequeñas usando un agente de separación que comprende polianión y catión divalente y entonces cuantificar el colesterol de LDL densas, pequeñas usando un reactivo para la medición del colesterol de LDL (clinical pathology, 25, págs. 406-413, 2004). Según la presente invención, puede usarse apropiadamente el método anterior para la medición del colesterol de LDL densas, pequeñas.

40 Por ejemplo, el colesterol de LDL dp puede medirse según la descripción de Clinical Pathology, 25, págs. 406-413, 2004 tal como sigue. Cuando se usa un suero o plasma como muestra y la muestra se mezcla con un agente de separación que comprende polianión y catión divalente, además de LDL de tamaños normales, VLDL, quilomicrones y similares forman agregados y los agregados se eliminan del sistema de reacción mediante centrifugación, filtración, o similares. Las LDL dp y HDL que no forman agregados permanecen en la disolución de reacción. Se hace que los reactivos que pueden usarse para un analizador de sistema de dos reactivos basado en el principio de un método de medición directo para colesterol de LDL actúen sobre la disolución de reacción. En una primera reacción, se hace que colesterol esterasa y colesterol oxidasa actúen en presencia de un tensioactivo que actúa sobre lipoproteínas distintas de LDL para eliminar el peróxido de hidrógeno así generado, de modo que se elimina el colesterol de HDL solo en la disolución de reacción. En la segunda reacción posterior, se mide el colesterol de LDL dp en la muestra. Por ejemplo, esto puede realizarse añadiendo un tensioactivo que actúa sobre al menos LDL y entonces cuantificando el peróxido de hidrógeno generado por la acción de colesterol esterasa y colesterol oxidasa añadidas en la primera etapa.

55 El método de la presente invención es un método para la detección y el diagnóstico de HLCF, sin embargo, también es un método para examinar HLCF.

60 Cuando aumenta el nivel cuantificado de colesterol de LDL densas, pequeñas hasta un nivel superior al de un sujeto normal no afectado por HLCF (por ejemplo, cuando el nivel medio de colesterol de LDL densas, pequeñas de sujetos normales es de 20 mg/dl, pero el nivel cuantificado de colesterol de LDL densas, pequeñas sérico es superior a 40 mg/dl), se determina que el sujeto está afectado por HLCF. Además, se determina que el riesgo de que se produzca enfermedad arteriosclerótica en tal sujeto es superior. Además, se sugiere que aumenta la gravedad de la arteriosclerosis, ya que se encuentra que los niveles medidos de colesterol de LDL densas, pequeñas de seres humanos a los que se les diagnostica que están afectados por HLCF aumentan hasta 45 mg/dl y 50 mg/dl. En tal caso, puede determinarse que el riesgo de aparición de una enfermedad arteriosclerótica tal como infarto cardíaco es alto.

Según el método de la presente invención para la detección de HLCF usando colesterol de LDL densas, pequeñas como marcador o el método de la misma para la evaluación y determinación del riesgo de enfermedad arteriosclerótica, HLCF, que ha sido imposible de detectar con el uso de marcadores lipídicos convencionales, puede detectarse, así como el riesgo de enfermedad arteriosclerótica que ha sido imposible de evaluar. Específicamente, en un paciente con HLCF, incluso cuando uno, dos o todos de TG, LDL-C y HDL-C y preferiblemente uno de o tanto TG como LDL-C están en niveles normales, el nivel de colesterol de LDL densas, pequeñas puede ser superior al nivel normal. Por tanto, el método de la presente invención es un método para la detección de HLCF, que puede detectar HLCF que ha sido imposible de detectar con el uso de marcadores lipídicos convencionales tales como TG, LDL-C y HDL-C. En el presente documento, el término "nivel normal" se refiere a un nivel que no es significativamente diferente estadísticamente de la concentración de un analito en una muestra de prueba recogida de un sujeto que se determina clínicamente que es normal.

Ejemplos

A continuación en el presente documento, la presente invención se describe en mayor detalle con referencia a los siguientes ejemplos, aunque la presente invención no se limita a los mismos.

[Ejemplo 1]

Se sometieron trescientos sesenta (360) sujetos normales sanos masculinos y femeninos que no habían desarrollado enfermedad arteriosclerótica y 9 sujetos que se había confirmado que estaban afectados por HLCF mediante examen de los sujetos o basándose en la historia familiar, a la medición del colesterol de LDL densas, pequeñas. Para la medición de colesterol de LDL densas, pequeñas, se usó LDL-C dp "Seiken" (producido por Denka Seiken Co., Ltd.).

La figura 1 muestra el resultado. Tal como se muestra en la figura 1, se encontró claramente que el nivel de colesterol de LDL densas, pequeñas aumentaba en el grupo con HLCF en comparación con el del grupo normal sano. Este resultado demuestra que la enfermedad de HLCF puede detectarse satisfactoriamente mediante la cuantificación del colesterol de LDL densas, pequeñas.

[Ejemplo 2]

Se compararon diversos parámetros lipídicos en muestras obtenidas del grupo de pacientes con HLCF usadas en el ejemplo 1. Se usaron reactivos similares a los usados en el ejemplo 1 para la medición del colesterol de LDL densas, pequeñas. Se midieron triglicéridos, colesterol de LDL y colesterol de HDL mediante un método enzimático.

La tabla 1 muestra los resultados. Se diagnostica generalmente que un sujeto está afectado por una enfermedad arteriosclerótica si el nivel del marcador lipídico TG o LDL-C en una muestra distinta de las muestras obtenidas de pacientes con HLCF es alto. Tal como se muestra en la tabla 1, se encontró que los niveles de TG o LDL-C eran bajos en algunas muestras obtenidas de pacientes con HLCF. Los niveles de colesterol de LDL densas, pequeñas eran altos en todos los casos. Esto indica que el colesterol de LDL densas, pequeñas puede ser un marcador de medición para el diagnóstico de HLCF, que tiene especificidad superior a la de marcadores lipídicos convencionales.

Tabla 1

	Sexo	Edad	TG	LDL-C	HDL-C	LDL-C dp
1	M	38	250	250	33	117,4
2	M	40	645	103	31	70,9
3	M	46	657	105	43	55,5
4	M	54	135	175	50	46,8
5	M	55	1334	85	54	49,8
6	M	63	1156	81	39	45,2
7	M	65	77	266	50	95,1
8	F	59	130	132	53	76,8
9	F	65	212	158	34	59,2

Unidad: mg/dl

TG: Triglicéridos; LDL-C: colesterol de LDL; HDL-C: colesterol de HDL; y LDL-C dp: colesterol de LDL densas, pequeñas

Ejemplo 3

Se sometieron sujetos normales sanos (1345 casos) sin diabetes ni arteriopatía coronaria a medición del colesterol de LDL densas, pequeñas usando LDL-C dp "Seiken" (producido por Denka Seiken Co., Ltd.).

Se especificó si las muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon basándose en la historia familiar (un factor para la definición de HLCF) y su hiperlipidemia. Se midieron la sensibilidad y especificidad cuando se varió el valor de punto de corte de LDL-C dp y entonces se produjo una curva ROC (figura 2).

Como resultado, cuando el LDL-C dp en la parte superior izquierda (punto A) en la curva ROC era de 40 mg/dl, la sensibilidad era del 92,3% y la especificidad era del 88,3%. Se determinó provisionalmente que este valor con sensibilidad y especificidad extremadamente altas era un valor de punto de corte.

Ejemplo 4

Se compararon un método para la detección de HLCF usando un valor de LDL-C dp de 40 mg/dl como valor de punto de corte, tal como se encontró en el ejemplo 3, un método basado en los tamaños de LDL, que es un método existente para la detección de HLCF, y un método basado en la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL. El método basado en los tamaños de LDL es un método mediante el cual se encuentra que un resultado es positivo si están presentes LDL con un tamaño de partícula de menos de 25,5 nm. El método basado en la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL es un método mediante el cual se encuentra que un resultado es positivo en un caso en el que $\text{ApoB/LDL-C} > 1,0$ (Guidelines for Diagnosis and Prevention of Arteriosclerotic Diseases 2002, ed., por Japan Atherosclerosis Society).

La figura 3 muestra los resultados. En la figura 3A a la figura 3D, las columnas de diagnóstico confirmado muestran los números de muestras cuando se especificó si muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon basándose en la historia familiar (un factor para la definición de HLCF) y su hiperlipidemia. "+" indica el número de muestras diagnosticadas con HLCF y "-" indica el número de muestras diagnosticadas sin HLCF. En la figura 3A, las columnas de la presente invención y LDL dp > 40 mg/dl muestran el número de muestras cuando se especificó si las muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon mediante el método de la presente invención usando el valor de LDL-C dp como valor de punto de corte (40 mg-dl). En la figura 3B, las columnas de tamaño de LDL muestran el número de muestras cuando se especificó si las muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon mediante el método basado en el tamaño de LDL. En la figura 3C, las columnas de $\text{ApoB/LDL} > 1,0$ muestran el número de muestras cuando se especificó si las muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon usando la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL como valor de punto de corte (10) y en la figura 3D, las columnas de la misma muestran el número de muestras cuando se especificó si las muestras se derivaban de pacientes con HLCF o sujetos sin HLCF y se agruparon usando el tamaño de LDL o la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL como valor de punto de corte (10). "+" indica el número de muestras diagnosticadas con HLCF mediante cada método. "-" indica el número de muestras no diagnosticadas con HLCF. Tal como se muestra en la figura 3A a la figura 3D, la sensibilidad y especificidad del método de la presente invención, el método basado en los tamaños de LDL, el método usando la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL y el método que usa los tamaños de LDL o la razón de apoproteína B con respecto a colesterol de LDL como valor de punto de corte (10) fueron del 92,3% y el 88,3%, del 30,8% y el 91,5%, del 7,7% y el 97,5%, y del 30,8% y el 90,6%, respectivamente. Los resultados así obtenidos demuestran que el método de la presente invención mediante el cual se realiza el diagnóstico usando el valor de LDL-C dp es superior a los métodos existentes en cuanto a sensibilidad y especificidad.

Basándose en los resultados en los ejemplos 3 y 4, puede decirse que se determina que un sujeto está afectado por HLCF cuando el LDL-C dp es de 40 mg/dl, y se determina que el riesgo de enfermedad arteriosclerótica es superior en tal sujeto.

REIVINDICACIONES

1. Método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar, que comprende medir la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas en un suero o plasma recogido de un sujeto, mediante el cual se determina si un sujeto va a verse afectado por hiperlipidemia combinada familiar cuando la concentración medida de colesterol de LDL densas, pequeñas en el suero o plasma es superior a 40 mg/dl, en el que el valor de punto de corte se determina produciendo una curva ROC.
2. Método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar según la reivindicación 1, que comprende medir la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas en una muestra recogida de un paciente, muestra en la que el nivel de TG o LDL-C es normal.
3. Método para la detección de hiperlipidemia combinada familiar según la reivindicación 1 ó 2, en el que la medición de la concentración de colesterol de LDL densas, pequeñas comprende:
- una primera etapa de separar LDL densas, pequeñas de LDL distintas de las LDL densas, pequeñas en una muestra o eliminar colesterol en una muestra realizando una reacción para LDL distintas de las LDL densas, pequeñas; y
- una segunda etapa de medir la concentración de colesterol en LDL densas, pequeñas tras la separación o eliminación de las LDL distintas de las LDL densas, pequeñas.

Fig. 1

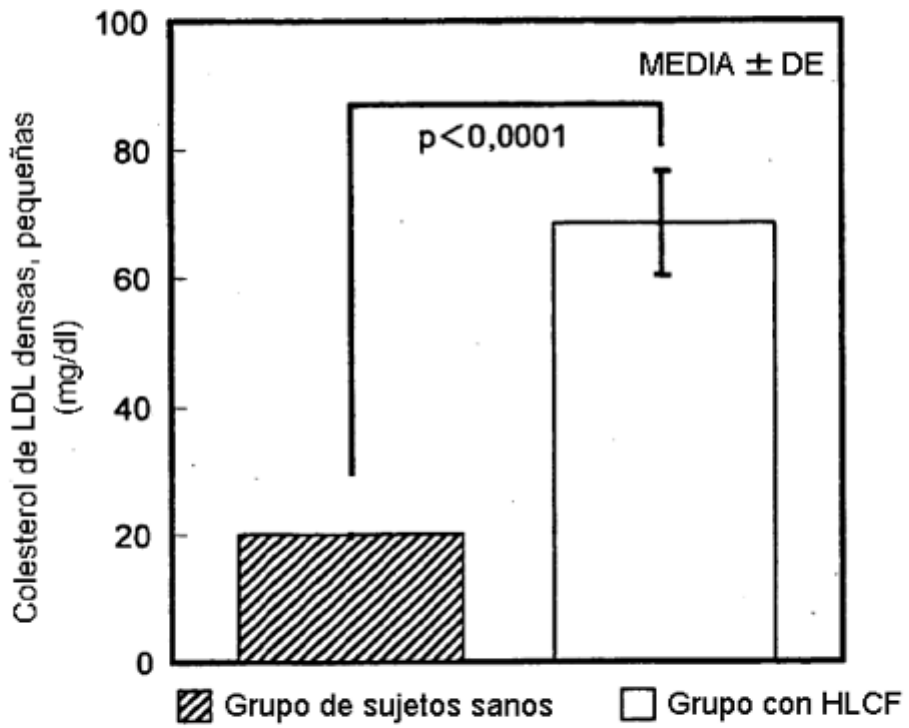


Fig. 2

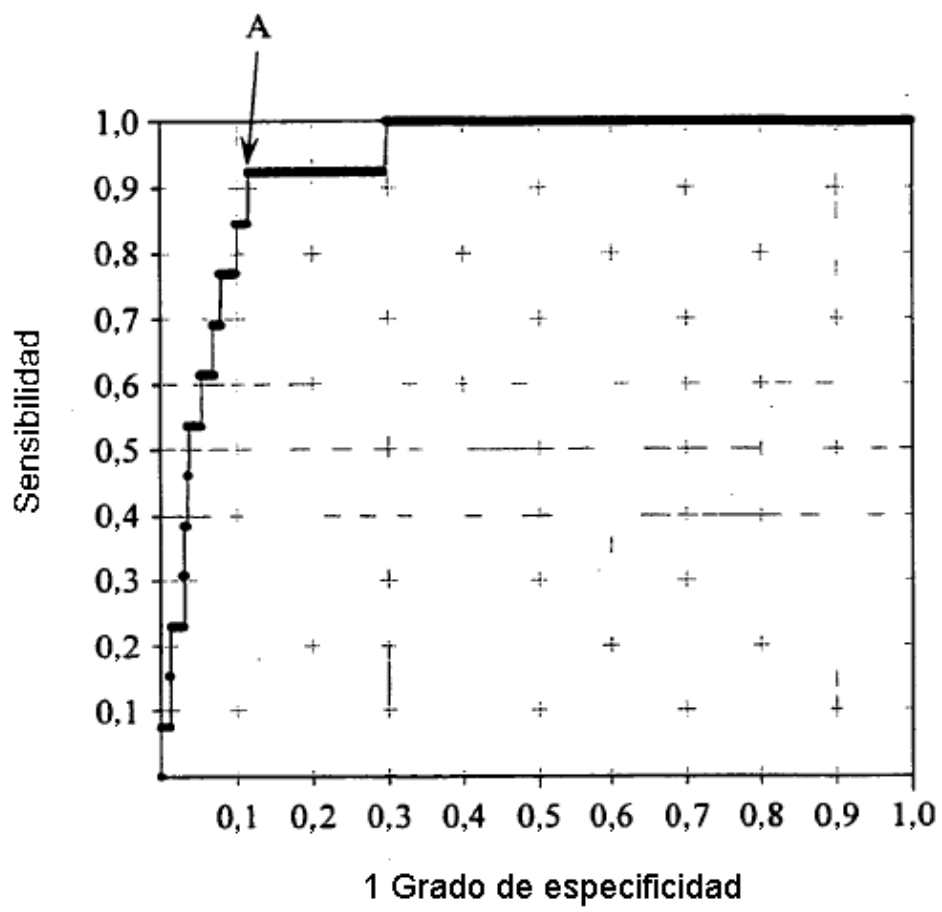


Fig. 3

A

		Diagnóstico confirmado		
		+	-	
Presente invención LDL dp > 40 mg/dl	+	12	156	168
	-	1	1176	1177
		13	1332	1345
Sensibilidad		92,3 %		
Especificidad		88,3 %		

B

		Diagnóstico confirmado		
		+	-	
Tamaño de LDL	+	4	113	117
	-	9	1218	1227
		13	1331	1344
Sensibilidad		30,8 %		
Especificidad		91,5 %		

C

		Diagnóstico confirmado		
		+	-	
ApoB/LDL > 1,0	+	1	33	34
	-	12	1299	1311
		13	1332	1345
Sensibilidad		7,7 %		
Especificidad		97,5 %		

D

		Diagnóstico confirmado		
		+	-	
ApoB/LDL > 1,0 o tamaño de LDL	+	4	125	129
	-	9	1207	1216
		13	1332	1345
Sensibilidad		30,8 %		
Especificidad		90,6 %		