

## IMPORTÂNCIA DAS APO-LIPOPROTEÍNAS NAS DISLIPIDEMIAS.

EDER C. R. QUINTÃO

### Importância das Lipoproteínas

As correlações entre colesterolemia, lipoproteínas plasmáticas e doença arteriosclerótica foram estabelecidas em mais de 20 anos de estudos epidemiológicos<sup>1, 2</sup>. Os níveis plasmáticos de lípides dependem da interação de fatores nutricionais<sup>3- 8</sup>, genéticos<sup>5, 8, 9- 15</sup> e alterações metabólicas secundárias<sup>3, 16, 19</sup>. A correlação da colesterolemia com as vasculopatias ateroscleróticas simplesmente reflete os níveis de lipoproteínas (LP) do plasma, que vão desde um aumento das LDL (“low density LP”), a mais abundante LP transportadora de colesterol, ou das precursoras das VLDL (“very low density LP”), uma diminuição das HDL (“high density LP”), além de combinações destas condições<sup>20- 25</sup>. Existem outras LP menos intensamente estudadas, como a Lp (a), mas que também podem ter relação com a aterosclerose<sup>26, 27</sup>, da mesma forma que LP anômalas, ou infreqüentes, resultantes de alterações genéticas e metabólicas secundárias<sup>28-30</sup>.

### Metabolismo das Lipoproteínas

Os estudos epidemiológicos enriqueceram-se por contribuições bioquímicas, genéticas e metabólicas que explicam mais claramente os processos de desenvolvimento da aterosclerose. As associações aparentemente singelas entre lípides e aterosclerose passaram a incluir a participação dos componentes protéicos das LP<sup>8, 20, 23, 30, 34</sup>, os receptores celulares das LP, que reconhecem as apo-LP, e a estrutura das LP<sup>35-38</sup>.

Identificaram-se processos metabólicos de controle da produção e utilização das LP intactas e de seus vários componentes<sup>19, 25, 39</sup>. Assim, cada fração lipoprotéica não é mais considerada estática. Ocorrem processos contínuos de trocas mútuas de componentes que alteram a composição das LPs em função do tempo. Neste processamento, é crítico o papel das apo-LP, que interagem com enzimas ligadas à superfície celular (lipases-lipoprotéicas), enzimas solúveis (lecitina-colesterol-aciltransferase—”LCAT”) e proteínas específicas que transferem moléculas hidrofóbicas entre as LP, tais como, colesterol, triglicérides, ácidos graxos e fosfolípides<sup>16, 23, 40, 45</sup>.

A estas transformações plasmáticas agrega-se a participação de vários tipos de receptores celulares, descritos pioneiramente por Brown e Goldstein, prin-

cipalmente os localizados no fígado, mas também em tecidos contendo células em multiplicação contínua, tais como fibroblastos, fibras musculares lisas e macrófagos<sup>31, 35, 37, 39</sup>. Os receptores reconhecem as LP essencialmente através das apo-LP<sup>44</sup>. A interação de todos estes componentes torna bastante complexo o controle do nível das LP.

Há condições que atuam primariamente no componente lipídico da LP, tais como modificações na composição alimentar, doenças, como o diabetes, que propicia maior aporte de substratos ao fígado (ácidos graxos, glicose), drogas que atuam primariamente no metabolismo do colesterol (colestiramina), etc. Por outro lado, acumulam-se evidências sobre a participação primária das apo-LP na regulação do metabolismo das LP. Distinguem-se defeitos herdados das apo-LP, responsáveis por alteração na sua composição e quantidade. Considerando-se que as membranas celulares são também LP, não surpreende a existência de alterações genéticas também nestas estruturas. O papel das apo-LP tem sido revelado pelos erros produzidos na natureza sobre a seqüência de aminoácidos das apo-LP e que condicionam alterações nos níveis das LP circulantes; mas também tem sido reproduzido experimentalmente em vários estudos, pela metabolização de LP naturais, LP naturais submetidas a certas modificações químicas, e LP artificiais “in vitro”, “in vivo” e em perfusão de órgãos isolados<sup>36, 37, 44, 46-48</sup>.

Defeitos na composição dos receptores e das apoLP traduzem modificações no código genético, ou seja, descrevem-se cada vez mais complexos fenotípicos em LP circulantes e nos receptores<sup>31, 44, 49</sup>. Esta contribuição genética é responsável pela diversidade de valores das LP circulantes, e conseqüentemente do colesterol e demais gorduras, em indivíduos da mesma população quando iguados por sexo, idade e medidas antropométricas. Ao fator hereditariedade acrescentam-se influências diversas: patologias comuns, como diabetes e obesidade; hábitos, como álcool, fumo e atividade física; drogas, como anticoncepcionais e anti-hipertensivos<sup>2, 6, 17, 50- 52</sup>. Quando populações de diferentes áreas geográficas são comparadas, se tornam mais díspares os valores plasmáticos, devido à influência da composição alimentar<sup>4</sup>.

Em resumo, as apo-LP participam em três processos metabólicos gerais: 1) transporte e distribuição de lípides entre vários tecidos; 2) co-fatores para enzi-

mas que regulam o metabolismo lipídico das LP; 3) manutenção da organização estrutural das LP<sup>44</sup>.

**Alterações das Apo-lipoproteínas**

Deve-se lembrar também que as apo-LP não podem ser consideradas estaticamente, ou seja, sua síntese, metabolismo, trocas entre as diversas LP, são processos complexos e que vêm sendo intensamente investigados. As apo-LP também sofrem transformações no seu peso molecular e estrutura, tanto na fase intracelular como durante sua permanência no plasma<sup>44,53</sup>. As apo-LP também podem ser secretadas como pró-Apo-LP, que em seguida se transformam em apo-LP madura<sup>53, 54</sup>, mas o papel fisiológico destas transformações ainda é desconhecido.

A investigação das dislipidemias familiares passou, assim, da mera identificação das LP pelo processo qualitativo, a eletroforese em papel ou acetato de celulose, desenvolvida por D. S. Fredrickson em 1967, para a fase de quantificação das LP por diversos procedimentos. Incluem-se aqui a ultracentrifugação preparativa e analítica<sup>55</sup>, a precipitação fracionada por reagentes combinados à ultra centrifugação<sup>56, 57</sup> e os atuais meios de identificação ou mesmo ainda de quantidade das apo-LP, como focalização isoelétrica, eletroimunensaio, radioimunensaio, cromatografia em gel, nefelometria a laser, etc<sup>20, 25, 27, 58, 64</sup>. Nesta evolução do conhecimento, as gorduras agregadas em LP assumem participação freqüentemente passiva, como se fossem a carga nos vagões das apo-LP: o número, tamanho e forma destas últimas e a viagem metabólica

dependendo do trilho genético. Métodos de identificação a nível do genoma ainda são complexos para a prática corrente, mas os procedimentos de hibridização mostram erros no DNA traduzidos em fenótipos das apo-LP<sup>44, 59, 65- 72</sup> e de receptores das LP<sup>32, 35, 49</sup>. Trabalho recente com monócitos circulantes indica a possibilidade rotineira de medida do defeito em receptores celulares das LDL <sup>39,73</sup>. Em outras palavras, o próprio mapeamento atual das apo-LP propicia uma tipagem apenas indireta dos defeitos genéticos, mas com poder de discriminação muito superior às medidas de lípidos ou LP.

**Apo-lipoproteínas nas Dislipidemias**

Na tabela I, são resumidas as alterações genéticas mais conhecidas das apo-LP, incluindo os receptores celulares, e que condicionam perturbações nos níveis das LP circulantes.

A despeito destes conhecimentos recentes, as decisões terapêuticas visando a prevenção da doença vascular são pragmaticamente baseadas em dois critérios: colesterolemia acima de certo limiar em indivíduos abaixo de 60 anos de idade, se bem que o nível do colesterol escolhido seja assunto controverso, como também nível baixo de HDL em indivíduos de qualquer idade, não obstante a exigüidade de procedimentos para elevar estas LP<sup>31, 74-76</sup>. Entretanto, esta conduta simples não dispensa o conhecimento dos defeitos primários que causam a dislipidemia, não meramente por razões científicas, mas também na prática clínica, como mostraremos em diversos exemplos. A1-

**TABELA I—Relação das apo-LP com as lipoproteínas e dislipidemias resultantes**

Grupos de apo-LP	Lipoproteínas <sup>a</sup> transportadoras	Dislipidemias resultantes
B <sub>100</sub> , B <sub>48</sub> , B <sub>75</sub>	LDL <sup>b</sup> (B <sub>100</sub> ); VLDL <sup>c</sup> (B <sub>100</sub> ); IDL <sup>d</sup> (B <sub>100</sub> ); Rem. <sup>e</sup> (B <sub>48</sub> ).	B <sub>100</sub> ▲ com hipercolesterolemia (receptores celulares B-E: ▼, 0 ou X); síntese ▲ B <sub>100</sub> sem hipercolesterolemia; B <sub>48</sub> ▲ (Lipase LP: ▼, 0 ou apo C: 0); B <sub>100</sub> + B <sub>48</sub> ▲ (apo E). B <sub>100</sub> <sup>2/2</sup> + B <sub>48</sub> : 0 (abetalipoproteinemia c/ manifestações clínicas); B <sub>100</sub> : 0 + B <sub>48</sub> normal (abetalip <sub>48</sub> sem manifestações clínicas).
C <sub>I</sub> , C <sub>II</sub> , C <sub>III</sub>	HDL <sup>f</sup> , VLDL, quilomícrons, IDL, Rem	C: ▼, 0; quilom ▲ + VLDL ▲ ou N (devido a lipase-LP ineficiente); hipertrigliceridêmicos de raça negra foram descritos com dois tipos de apo C (61). Relação C/C: ▼: defeito causador ou secundário à hipertrigliceridemia?
A <sub>I</sub> , A <sub>II</sub> , A <sub>III</sub> , A <sub>IV</sub>	HDL, quilomícrons, Rem; VLDL, IDL	Há 10 variações em A atribuídas a X acarretando ▼ ou 0: doença de Tangier, A-I <sup>Milano</sup> , etc.) determinantes de HDL ▼ e aterosclerose ▲ (22, 21).
A <sub>I</sub> + C <sub>III</sub>	Ver acima	Associação familiar com LDL ▲, IDL + VLDL ▼▼, HDL ▲▲: aterosclerose precoce (25): ▼ de C <sub>III</sub> , + A (são ligados ao cromossoma 11) (105).
E <sub>2</sub> , E <sub>3</sub> , E <sub>4</sub> (isoformas)	VLDL, quilomícrons, Rem, HDL <sub>1</sub> , HDL <sub>2</sub> <sup>g</sup>	Mapeados no cromossomo 19 (tal como apo C e o receptor B-E); ligação ao receptor B-E: E <sub>2</sub> > E <sub>3</sub> > E <sub>4</sub> . Cada pessoa herda 2 gens apoE; assim, há possibilidade de 6 genótipos: E <sub>2</sub> <sup>3/3</sup> , E <sub>2</sub> <sup>3/4</sup> , E <sub>2</sub> <sup>3/2</sup> , E <sub>2</sub> <sup>4/4</sup> , E <sub>2</sub> <sup>4/2</sup> , E <sub>2</sub> <sup>2/2</sup> . Hiperlipoproteinemia tipo III (βLP flutuante a D = 1.006) <sup>3/3</sup> deve-se ao genótipo E <sub>2</sub> <sup>2/2</sup> .
Lp (a)	"sinking pre-β-LP" = LP (a)	Componente de densidade intermediária entre LDL e HDL, contém apo-B e apo (a).

a—apresentadas em ordem decrescente de acordo com a massa nas diversas LP isoladas por ultracentrifugação em normais, em jejum; b—"Low density LP" (d = 1.019—1.063); c—"Very low density LP" (d = < 1.006); d—"intermediate density LP" (d = 1.006—1.019) presentes em quantidades discretíssimas em condições normais; e—remanescentes gerados pelo intestino (incluem parte de VLDL), presentes apenas em perturbações do metabolismo (d < 1.006); f—"high density lipoproteins" (d = 1.100— 1.210) com subfrações HDL<sub>1</sub>, HDL<sub>2</sub> e HDL<sub>3</sub>; g—produzida experimentalmente no fígado por ingestão excessiva de colesterol. Aumento (▲), diminuição (▼), ausência (0), ou alteração na composição (X).

gumas situações são verdadeiramente raras na população, porém outras de frequência cada vez mais detectadas e que justificam amplamente a implantação em nosso meio de recursos para identificação e medida das apo-LP.

### Hipercolesterolemia Familiar (Tipo II)

Em casos felizmente raros (talvez 1 por milhão de indivíduos na população geral) a hipercolesterolemia é da forma homozigótica, limitando severamente a vida. Nela se distinguem quatro classes de defeitos de receptores devidos a 10 alelos<sup>35</sup>. Alguns respondem à terapêutica medicamentosa, outros são resistentes e requerem técnicas mais drásticas, não obstante excepcionais, como plasmaferese, derivação ileal, cirurgia porto-cava e até transplante de fígado<sup>77, 78</sup>. À custa de incubação de fibroblastos de líquido amniótico com <sup>125</sup>I-apo LDL, é possível reconhecer a presença de defeitos de receptores específicos das LDL, na vida intrauterina, na hipercolesterolemia familiar (monogenética)<sup>79</sup>. Portanto, o reconhecimento destas alterações a nível genético e celular tem finalidade prática.

### Diabetes

O diabetes tipo II (não insulino-dependente) acompanha-se com frequência de hiperlipidemia<sup>17, 19, 55</sup>, mas a herança destas duas alterações é totalmente independente<sup>17</sup>. O tratamento do diabetes diminui e geralmente normaliza os lípides séricos. A despeito da extensa literatura não é perfeitamente conhecida a razão pela qual o diabetes agrava a hiperlipemia ou a torna mais freqüente<sup>17, 19</sup>. Comprovou-se que a glicosilação de apo-LP, que parece um fenômeno universal no diabetes<sup>80</sup>, deve ser crítica na metabolização das LP<sup>81</sup>. A glicosilação poderia afetar certos tipos de apo-LP, condicionados pela hereditariedade, e com isto explicar a ocorrência de hiperlipidemia em apenas uma fração dos diabéticos, embora muito semelhantes quanto à intensidade do diabetes, insulinemia ou grau de obesidade.

### Beta Larga (Tipo III)

A identificação da dislipidemia tipo III, originalmente descrita por Fredrickson ("beta large" = b-VLDL = b-LP flutuante a densidade = 1.006) é hoje perfeitamente factível pelo mapeamento qualitativo das apo-Es, principalmente por focalização isoeétrica destas apo-LP obtidas após delipidação do sobrenadante a densidade = 1.006<sup>8, 58, 64, 82-84</sup>. Nos familiares do propósito são detectados, com maior incidência que em normais, os fenótipos desta hiperlipidemia, porém, surpreendentemente, os lípides séricos são com frequência normais<sup>8, 58, 85, 86</sup>. Entretanto, a identificação do defeito genético é importante nestes familiares, visto que a hiperlipidemia surge apenas no decorrer da fase adulta<sup>86</sup>. Postulamos que outros fatores devam ser necessários para

a expressão do fenótipo, tais como intolerância à glicose ou resistência à insulina na obesidade, os quais reconhecidamente estimulam a produção hepática de VLDL<sup>19</sup>.

### Hiperquilomicronemia (Tipo I)

A hiperquilomicronemia familiar, rara, de herança recessiva, foi muito tempo atribuída à deficiência da lipase-lipoprotéica; entretanto, atualmente se reconhecem casos imputados à ausência de apo-C II<sup>87</sup>, estimuladora de atividade da enzima e capaz de corrigir a trigliceridemia quando administrada endovenosamente<sup>88</sup>. Aliás, são agora reconhecidas duas apo-CII (CII<sub>1</sub> e CII<sub>2</sub>) em indivíduos severamente hipertrigliceridêmicos de raça negra. A coexistência destas apo-LP ocorre em aproximadamente 3% dos negros, mesmo que normolipêmicos, mas nunca nos caucasianos; nestes, há apenas a apo-C originalmente descrita, agora marcada como CII<sub>1</sub><sup>89</sup>.

### Hipobeta e Abetalipoproteinemia

A detecção de hipocolesterolemia (colesterol abaixo do 5<sup>o</sup> percentil da população), em exame ocasional, também justifica a medida de LDL no propósito e seus familiares de 1<sup>o</sup> grau, devido à possibilidade de abetalipoproteinemia<sup>24, 90</sup>. Esta doença, embora rara, decorre da ausência mista de apo B<sub>100</sub> (produzida no fígado e transportada nas VLDL), e de apo B<sub>48</sub> (produzida no intestino e integrante dos quilomicrons). O defeito parcial que atinge apenas a apo B<sub>100</sub> é assintomático<sup>40</sup>.

Problemas mais freqüentes são forte argumento para a necessidade de identificação e quantificação das apo-LP. Assim, indivíduos com xantelasma têm colesterolemia mais freqüentemente elevada do que os normais<sup>91</sup>; entretanto, pacientes com xantelasma têm aumento da apo-B, que na realidade designa apo B<sup>100</sup>, mesmo na ausência de hipercolesterolemia<sup>92</sup>. A associação de xantelasma e hiper-apo-B reforça a possibilidade indicada por outros estudos de que a apo-B elevada constitua fator de risco coronário independente da hipercolesterolemia<sup>33, 34, 93, 94</sup>. Questão paralela é a explicação de apo-B alta com colesterol normal, pois ambos integram as LDL. É possível que dois fatores independentes condicionem o nível de LDL; 1) o papel dos receptores celulares, cuja diminuição acarreta hipercolesterolemia<sup>35</sup>; 2) síntese hepática aumentada de VLDL, que é a LP precursora de LDL, ou mesmo produção de LDL independente da VLDL<sup>93, 95</sup>.

### Lipoproteínas de Alta-Densidade (HDL)

Deve-se também procurar afastar a hipo-HDL em normocolesterolêmicos com doença vascular aterosclerótica e seus familiares<sup>21</sup>. Por outro lado, há fortes evidências de que o valor da apo-A<sub>1</sub>, principal apo-LP

integrante das HDL, discrimina melhor a suscetibilidade à doença vascular do que os métodos vigentes de medida de HDL<sup>20, 22, 34</sup>. Isto em parte se deve ao fato de que a determinação de apo-LP, embora tecnicamente mais complexa, é bastante precisa, enquanto a precária reprodutibilidade na dosagem do HDL-colesterol torna sua medida pouco confiável<sup>56, 57</sup>.

Têm sido descritos vários fenótipos de diminuição da apo-A<sub>1</sub><sup>21, 22, 44</sup>, inclusive associação com deficiência da apo CIII<sup>25, 30, 96</sup>. Estes acidentes genéticos servem para demonstrar que a apo A<sub>1</sub> tem efeito protetor contra a aterosclerose, tal qual salientado em estudos epidemiológicos. Entretanto, o mecanismo desta proteção não é bem conhecido: é possível que a apo-A<sub>1</sub>, via HDL, participe da retirada do colesterol celular, transportando-o ao fígado, isto é, uma via reversa de transporte de colesterol; porém surgem LP anômalas com frequência e estas poderiam acelerar a aterosclerose<sup>25, 30, 96</sup>.

### Outras Lipoproteínas e Aterosclerose

Outras frações lipoprotéicas medidas pelos métodos não convencionais vêm ganhando importância pelo relacionamento com a aterosclerose. É o caso da LP<sup>(a)</sup>, também chamada “sinking pre-beta” (sp B)<sup>26, 27, 97, 99</sup> que pode ser isolada pela combinação da ultracentrifugação com a cromatografia em coluna das LP, em faixa de densidade próxima da fração HDL<sub>1</sub> (1.05 —1.125). O nível destas LP está associado à incidência de doença coronária. A principal apo-LP contida nesta faixa de densidade apo (a)—foi identificada em lesões ateroscleróticas humanas. Trabalho recente demonstrou presença de apo (a) na fração quilomicrons no período alimentar, o que poderia estabelecer ligação dos quilomicrons com a aterosclerose<sup>26</sup>. É necessária esta medida de rotina para explorar a relação destas LP com doenças que acompanham de hiperlipidemia a aterosclerose, como é o caso do diabetes, como também a participação da herança e composição alimentar no nível de LP<sub>(a)</sub>, visto que fatores raciais têm influência<sup>27</sup>.

### Alterações de Apo-LP Secundárias a Patologias

Além da importância genética das apo-LP, deve-se lembrar que várias patologias, drogas e hormônios podem atuar primariamente no metabolismo das apoLP, secundariamente refletindo sobre os lípidos das LP: 1) anticonvulsivantes (fenobarbital, ácido valpróico, etc) elevam as apo-A<sub>s</sub><sup>100</sup>, 2) hipotireoidismo provoca diminuição do número de receptores da apo-B<sup>101</sup>; 3) cirrose hepática enriquece HDL em apo-E<sup>102</sup>; anti-hipertensivos como diuréticos e bloqueadores adrenérgicos alteram os níveis das apo-LP; o prazosin diminui a apo-B e aumenta a apo-A, enquanto o atenolol tem efeito oposto<sup>103</sup>. No caso do hipotireoidismo, a explicação recente é a diminuição do número de receptores das LDL e conseqüentemente a quantidade de LDL se amplia<sup>101</sup>;

entretanto, há várias possibilidades metabólicas para explicar as variações das demais apo LP acima mencionadas e que necessitam ser exploradas. Por exemplo, o hábito de fumar, que está claramente correlacionado com a incidência de infarto miocárdico, também parece capaz de reduzir o nível de HDL e conseqüentemente das apo-LP desta fração<sup>104, 105</sup>. Isto adquire importância quando diversos estudos epidemiológicos indicam relação inversa entre nível de HDL e doença coronária<sup>20, 22, 34</sup>.

### REFERÊNCIAS

1. Stamler, J.—Review of primary prevention trials of coronary heart disease. *Acta Med Scand*, 701 (suppl.) 100, 1985.
2. Steinberg, D.—Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. N. I. H. consensus development conference statement. *Arteriosclerosis*, 5: 404, 1985.
3. Criqui, M. H.—Epidemiology of atherosclerosis: an updated overview. *Am J Cardiol*, 57: 18c, 1986.
4. Little, J. A.; Graves, K.; Suchindran, C. M.; Milner, J.; McGuire, V.; Beaton, G.; Feather, T.; Mattson, F. H.—Customary diet, anthropometry, and dyslipoproteinemia in selected North American populations. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-80, 1986.
5. Criqui, M. H.; Cowan, L. D.; Heiss, G.; Haskell, W. L.; Laskarzewski, P. M.; Chambless, L. E.—Frequency and clustering of non lipid coronary risk factors in dyslipoproteinemia. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-40, 1986.
6. Iselius, L.; Carlson, L. A.; Morton, N. E.; Effendio, S.; Lindstein, J.; Luft, R.—Genetic and environmental determinants for lipoprotein concentrations in blood. *Acta Med Scand*, 217: 161, 1985.
7. Phillips, G. B.—Hyperestrogenemia, diet and disorders of western societies. *Am J Med*, 78: 363, 1985.
8. Robertson, F. W.; Cumming, A. M.—Effects of apoprotein E polymorphism on serum lipoprotein concentration. *Arteriosclerosis*, 5: 283, 1985.
9. Francke, U.; Brown, M. S.; Goldstein, J. L.—Assignment of the human gene for the low density lipoprotein receptor to chromosome 19: synteny of a receptor, a ligand and a genetic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81: 2826, 1984.
10. Rubenstein, C.; Romhilt, D.; Segal, P.; Heiss, G.; Chambless, L. E.; Boyle, K. E.; Ekklund, L. G.—Dyslipoproteinemias and manifestations of coronary heart disease. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): 91, 1986.
11. Neufeld, A. N.; Goldbourt, U.—Coronary heart disease: genetic aspects. *Circulation*, 67: 943, 1983.
12. Iselius, L.; Lalouel, J. M.—Complex segregation analysis of hyperalphalipoproteinemia. *Metabolism*, 31: 521, 1982.
13. Glueck, C. J.; Laskarzewski, P. M.; Suchindran, C. M.; Chambless, L. D.; Barret-Conner, E.—Progeny's lipid and lipoprotein levels by parental mortality. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-51, 1986.
14. Morrison, J. A.; Kelly, K.; Horvitz, R.; Khoury, Laskarzewski, P. M.; Mellies, M.J.; Glueck, C. J.—Parent offspring and sibling lipid and lipoprotein association during and after sharing of household environments: Princeton School District Family Study. *Metabolism*, 31:158, 1982.
15. Morrison, J. A.; Nambodiri, K.; Green, P.; Martin, J.; Glueck, C. J.—Familial aggregation of lipids and lipoproteins and early identification of dyslipoproteinemia. *JAMA*, 250: 1960, 1983.
16. Breckenridge, W. C.; Little, J. A.; Alaupovic, P.; Wang, C. S.; Kuksis, A.; Kakis, G.; Lindgren, F.; Gardiner, G.—Lipoprotein abnormalities associated with a familial deficiency of hepatic lipase. *Atherosclerosis*, 45:161, 1982.
17. Brunzell, J. D.; Hazzard, W. R.; Motulsky, A. G.; Bierman, E. L.—Evidence for diabetes mellitus and genetic forms of hypertriglyceridemia as independent entities. *Metabolism*, 24: 1115, 1975.
18. Bradley, D. D.; Wingerd, J.; Petitti, D. B.; Krauss, R. M.; Ramcharan, S.—Serum high-density-lipoprotein cholesterol in women using oral contraceptives, estrogens and progestins. *N. Engl J Med*, 299:17, 1978.



19. Vessby, B.; Selinus, I.; Lithell, H.—Serum lipoprotein and lipoprotein lipase in overweight, type II diabetics during and after supplemented fasting. *Arteriosclerosis*, 5: 93, 1985.
20. Noma, A.; Yokosuka, T.; Kitamura, K.—Plasma lipids and apolipoproteins as discriminators for presence and severity of angiographically defined coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 49: 1, 1983.
21. Third, J. L. H. C.; Montag, J.; Flynn, M.; Freidel, J.; Laskarzewski, P.; Glueck, C. J.—Primary and familial hypoalphalipoproteinemia. *Metabolism*, 33: 136, 1984.
22. Uttermann, G.—Genetic disorders of high-density lipoprotein metabolism and atherosclerosis—what can we learn? *Eur J Clin Invest*, 12: 5, 1982.
23. Roheim, P. S.—Atherosclerosis and lipoprotein metabolism: role of reverse cholesterol transport. *Am J Cardiol*, 57: 3c, 1986.
24. La Rosa, J. C.; Chambless, L. E.; Criqui, M. H.; Frantz, I. D.; Glueck, C. J.; Heiss, G.; Morrison, J. A.—Patterns of dyslipoproteinemia in selected North American populations. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-12, 1986.
25. Rorte, T. M.; Nichols, A. V.; Krauss, R. M.; Norum, R. A.—Familial apolipoprotein A<sub>1</sub> and apolipoprotein C<sub>III</sub> deficiency: subclass distribution, composition, and morphology of lipoproteins in a disorder associated with premature atherosclerosis. *J Clin Invest*, 74: 1601, 1984.
26. Bersot, T. P.; Innerarity, T. L.; Pitas, R. E.; Rall Jr, S. C.; Weisgraber, K. H.; Mahley, R. W.—Fat feeding in humans induces lipoproteins of density less than 1006 that are enriched in apolipoprotein (a) and that cause lipid accumulation in macrophages. *J Clin Invest*, 77: 622, 1985.
27. Guyton, J. R.; Dahlen, G. H.; Patsch, W.; Kautz, J. A.; Gotto Jr, A. M.—Relationship of plasma lipoprotein Lp (a) levels to race and apolipoprotein B. *Arteriosclerosis*, 5: 265, 1985.
28. Fainaru, M. R.; Mahley, R. W.; Hamilton, R. L.; Innerarity, T. L.—Structural and metabolic heterogeneity of B-very low density lipoproteins from cholesterol-fed dogs and from humans with type III hyperlipoproteinemia. *J Lipid Res*, 23: 702, 1982.
29. Mahley, R. W.—Atherogenic lipoproteins and coronary artery heart disease: concepts derived from recent advances in cellular and molecular biology. *Circulation*, 72: 943, 1985.
30. Gibson, J. C.; Rubinstein, A.; Brown, W. V.; Ginsberg, H. N.; Greten, H.; Norum, R.; Kayden, H.—Apo E—containing lipoproteins in low or high density lipoprotein deficiency. *Arteriosclerosis*, 5: 371, 1985.
31. Kottke, B. A.—Lipid markers for atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 57: 11c, 1986.
32. Heiden, G. L. V.; Barboria, J. J.; Sasse, E. A.; Yorde, D. E.—Correlation of the extent of coronary occlusion with apo B levels. *Atherosclerosis*, 50: 29, 1984.
33. Teng, B.; Thompson, G. R.; Sniderman, A. D.; Forte, T. M.; Krauss, R. M.; Kwiterovich Jr, P. O.—Composition and distribution of low density lipoprotein fraction in hyperapobetalipoproteinemia, normolipidemia, and familial hypercholesterolemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80: 6662, 1983.
34. Brunzell, J. D.; Sniderman, A. D.; Albers, J. J.; Kwiterovich, P. O.—Apoproteins B and A-1 and coronary artery disease in humans. *Arteriosclerosis*, 4: 79, 1984.
35. Koo, C.; Innerarity, T. L.; Mahley, R. W.—Obligatory role of cholesterol and apolipoprotein E in the formation of large cholesterol-enriched and receptor-active high density lipoproteins. *J Biol Chem*, 260: 11934, 1985.
36. Glass, C.; Pittman, R. C.; Civen, M.; Steinberg, D.—Uptake of high-density lipoprotein-associated apoprotein A-I and cholesterol esters by 16 tissue of the rat in vivo and by adrenal cells and hepatocytes in vitro. *J Biol Chem*, 260: 744, 1985.
37. Fidge, N.; Nestel, P. J.—Identification of apolipoproteins involved in the interaction of human high density lipoprotein<sub>3</sub> with receptors on cultured cells. *J Biol Chem*, 260: 3570, 1985.
38. Innerarity, T. L.; Arnold, K. S.; Weisgraber, K. H.; Mahley, R. W.—Apolipoprotein E is the determinant that mediates the receptor uptake of B-very low density lipoproteins by mouse macrophages. *Arteriosclerosis*, 6: 114, 1986.
39. Tuner, P. R.; Revill, J.; La Vile, A.; Cortese, C.; Lewis, B.—Metabolic study of variation in plasma cholesterol level in normal man. *Lancet*, 1: 663, 1984.
40. Sparks, J. D.; Sparks, C. E.—Apolipoprotein B and lipoprotein metabolism. *Adv. Lipid Res.* 21: 1, 1985.
41. Hopkins, G. J.; Chang, L. B. F.; Barter, P. J.—Role of lipid transfers in the formation of a subpopulation of small high density lipoproteins. *J Lipid Res*, 26: 218, 1985.
42. Dieplinger, H.; Zechner, R.; Kostner, G. M.—The in vitro formation of HDL<sub>2</sub> during the action of LCAT: the role of triglyceride-rich lipoproteins. *J Lipid Res*, 26: 273, 1985.
43. Tall, A. R.; Krumboltz, S.; Olivecrona, T.; Deckelbaum, T. J.—Plasmaphospholipid transfer protein enhances transfer and exchange of phospholipids between very low density lipoproteins and high density lipoproteins during lipolysis. *J Lipid Res*, 26: 842, 1985.
44. Mahley, R. W.; Innerarity, T. L.; Rall Jr, S. C.; Weisgraber, K. H.—Plasma lipoproteins: apolipoproteins structure and function. *J Lipid Res*, 25: 1277, 1984.
45. Zilversmit, D. B.—Lipid transfer proteins. *J Lipid Res*, 25: 1563, 1984.
46. Shelburne, F.; Hanks, J.; Meyers, W.; Quarfordt, S.—Effect of apoproteins on hepatic uptake of triglyceride emulsions in the rat. *J Clin Invest*, 65a: 652, 1980.
47. Nestler, J. E.; Chacko, G. K.; Straus III, J. F.—Simulation of rat ovarian cell steroidogenesis by high density lipoproteins modified with tetranitromethane. *J Biol Chem*, 260: 7316, 1985.
48. Windler, E.; Havel, R. J.—Inhibitory effects of C apolipoproteins from rats and humans on the uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants by the perfused rat liver. *J Lipid Res*, 26: 549, 1985.
49. Lehrman, M. A.; Schneider, W. J.; Südhof, T. C.; Brown, M. S.; Goldstein, J. L.; Russell, D. W.—Mutation in LDL receptor: Alu-alu recombination deletes exons encoding transmembrane and cytoplasmic domains. *Science*, 227: 140, 1985.
50. Wallace, T. B.; Hunninghake, D. B.; Chambless, L. E.; Heiss, G.; Wahl, P.; Barre-Connor E.—A screening survey of dyslipoproteinemias associated with prescription drug use. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-91, 1986.
51. Samuel, P.; Chin, B.; Fenderson, R. W.; Schoenfeld, B. H.; Gonasun, L. M.; Lieberman, S.—Improvement of the lipid profile during long-term administration of Pindolol and Hydrochlorothiazide in patients with hypertension. *Am J Cardiol*, 57: 24c, 1986.
52. Haffner, S. M.; Bodwen, D. A.; Wahl, P. W.; Warnick, G. R.; Albers, J. J.; Hazzard, W. R.—Epidemiological correlates of the high density lipoprotein subfractions apolipoproteins A-I, A-II, and D, and lecithin cholesterol acyltransferase: effects of smoking, alcohol and adiposity. *Arteriosclerosis*, 5: 169, 1985.
53. Scanu, A. M.; Byrne, R. E.; Edelstein, C.—Proteolytic events affecting plasma apolipoproteins at the co- and post-translational levels and after maturation. *J Lipid Res*, 25: 1593, 1984.
54. Bojanovski, D.; Greeg, R. E.; Ghiselli, G.; Schaefer, E. J.; Jight, J. A.; Brewer Jr, H. B.—Human apolipoproteins A-1 isoprotein metabolism proapo-A, conversion to mature apo A-I. *J Lipid Res*, 26: 185, 1985.
55. Fischer, W. R.—Heterogeneity of plasma low density lipoproteins manifestations of the physiologic phenomenon in man. *Metabolism*, 32: 283, 1983.
56. Naito, H. K.—Reliability of lipid and lipoprotein testing (I). *Am J Cardiol*, 56: 6j, 1985.
57. O'Brien, J. E.—Reliability of lipid and lipoprotein testing (II). *Am J Cardiol*, 56: 12j, 1985.
58. Assmann, G.; Schmitz, G.; Menzel, H. J.; Shulte, H.—Apolipoprotein E polymorphism and hyperlipidemia. *Clin Chem*, 30: 641, 1984.
59. Karathanasis, S.; Zannis, V. I.; Breslow, J. L.—A DNA insertion in the apolipoprotein A-I gene of patients with premature atherosclerosis. *Nature*, 305: 823, 1983.
60. Erkelens, D. W.; Mocking, J. A.—The CII/CIII ratio of transferable apolipoprotein in primary and secondary hypertriglyceridemia. *Clin Chim Acta*, 121: 59, 1982.
61. Fievet-Decreumaux, C.; Decooperman, E. D.; Deceilly, P.; Sezille, G.; Jailard, J.—Immunochemical determination of human apolipoprotein A-I by laser nephelometry. *Clin Chim Acta*, 107: 145, 1980.
62. Calandra, S.; Tarugi, P.; Ghiselline, M.—Separation of the isoprotein forms of apoprotein A-I of rat, rabbit and human HDL by combined

- isoelectric focusing and SDS—Polyacrylamide gel electrophoresis. *Atherosclerosis*, 50: 209, 1984.
63. Cazzolato, G.; Bon G. B.; Avogero, P.—Apoprotein B-48 is a constant finding in very low density lipoproteins of humans. *Arteriosclerosis*, 5: 88, 1985.
  64. Lussier-Cacan, S.; Bouthillier, D.; Davignon, J.—Apo E allele frequency in primary endogenous hypertriglyceridemia (Type IV) with and without hyperbetalipoproteinemia. *Arteriosclerosis*, 5: 639, 1985.
  65. Rees, A.; Stochs, J.; Shoulders, C. C.; Galton, D. J.—DNA polymorphism adjacent to human apoprotein A-1 gene: relation to hypertriglyceridemia. *Lancet*, 1: 444, 1983.
  66. Paik, Y. K.; Chang, D. J.; Reardon, C. A.; Davies, G. E.; Mahley, R. W.—Taylor J. M.—Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82: 3445, 1985.
  67. Karathanasis, S. K.; Norum, R. A.; Zannis, V. I.; Breslow, J. L.—An inherited polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene locus related to the development of atherosclerosis. *Nature*, 301: 718, 1983.
  68. Jackson, C. L.; Bruns, G. A. P.; Breslow, J. L.—Isolation and sequence of human apolipoprotein CII C DNA clone and its use to isolate and map to human chromosome 19 the gene for apolipoprotein C II. *Proc. Natl Acad Sci, USA* 81: 2945, 1984.
  69. Hasstedt, S. J.; Albers, J. J.; Cheung, M. C.; Jorde, L. B.; Edwards, C. Q.—The inheritance of high density lipoprotein cholesterol and apolipoproteins A-I, A-II. *Atherosclerosis*, 51: 21, 1984.
  70. Rees, A.; Stocks, J.; Sharpe, C. R.; Vella, M. A.; Shoulders, Katz, J.—Deoxyribonucleic acid polymorphism in the apolipoprotein A-1-C-III gene cluster. *J Clin Invest*, 76: 1090, 1985.
  71. Hanis, C.; Chakraborty, R.; Emmett, D. H.—How much of variability in apolipoprotein A-II concentrations is explained by polymorphism adjacent to apo-A II gene? *Lancet*, 1: 1339, 1985.
  72. Karathanasis, S. K.; Zannis, V. I.; Breslow, J. L.—Isolation and characterization of C DNA clones corresponding to two different human apo C-III alleles. *J Lipid Res*, 26: 451, 1985.
  73. Cuthbert, J. A.; East, C. A.; Bilheimer, D. W.; Lipsky, P. E.—Detection of familial hypercholesterolemia by assaying function at low-density-lipoprotein receptors on lymphocytes. *N Eng J Med*, 314: 879, 1986.
  74. Hoeg, J. M.; Gregg, R. E.; Brewer Jr, H. B.—An approach to the management of hyperlipoproteinemia. *JAMA*, 255: 512, 1986.
  75. Eder, H. A.; Gidez, L. I.—The clinical significance of the plasma high density lipoproteins. *Med Clin N America*, 66: 431, 1982.
  76. McManus, B. M.—Defining coronary risks in a reference range for total cholesterol and lipoprotein values. A problem yet to be solved. *Am J Cardiol*, 56: 12J, 1985.
  77. Kane, J. P.; Malloy, M. J.—Treatment of hypercholesterolemia. *Med Clin N America*, 66: 537, 1982.
  78. Starzl, T. E.; Bilheimer, D. W.; Bahnson, H. T.; Shaw Jr, B. W.—Heart-liver transplantation in a patient with familial hypercholesterolemia. *Lancet*, 1: 1382, 1984.
  79. Brown, M. S.; Goldstein, J. L.—A receptors-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, 232: 34, 1985.
  80. Brownlee, M.; Vlassara, H.; Cerami, A.—Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes*, 34: 938, 1985.
  81. Cerami, A.; Vlassara, H.; Brownlee, M.—Protein glycosylation and the pathogenesis of atherosclerosis. *Metabolism*, 34: 37, 1985.
  82. Holmquist, L.—Distribution of apolipoprotein E isoforms between very low and high density lipoproteins of normal subjects and hyperlipidemic patients with special reference to type III hyperlipidemia. *Acta Med Scand*, 215: 113, 1984.
  83. Yamamura, T.; Yamamoto, A.; Hiramori, K.; Nambu, S.—A new isoform of apolipoprotein E-Apo E-5-associated with hyperlipidemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 50: 159, 1984.
  84. Janus, E. D.; Grant, S.; Lintott, C. J.; Wardell, M. R.—Apolipoprotein E phenotypes in hyperlipidemic patients and their implications for treatment. *Atherosclerosis*, 57: 249, 1985.
  85. Stuyt, P. M. J.; Demacker, P. N. M.; Vantlaar, A.—Serum lipids, lipoproteins and apolipoprotein E phenotype in relatives of patients with type III hyperlipoproteinemia. *Eur J Clin Invest*, 14: 219, 1984.
  86. Havel, R. J.—Familial dysbetalipoproteinemia: new aspects of pathogenesis and diagnosis. *Med Clin N Amenea*, 66: 441, 1982.
  87. Saku, K.; Cedres, C.; McDonald, B.; Hynd, B. A.; Liu, B. W.; Shivastava, L. S.; Kashyap, M. L.—C-II anapolipoproteinemia and severe hypertriglyceridemia: report of a rare case with absence of C-II apolipoprotein isoforms and review of the literature. *Am J Med*, 77: 457, 1984.
  88. Baggio, C.; Manzato, E.; Gabelli, C.; Fellin, R.; Martini, S.—Apolipoprotein C-II deficiency syndrome: clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity, and correction of hypertriglyceridemia after apolipoprotein GII administration in two affected patients. *J Clin Invest*, 77: 520, 1986.
  89. Menzel, H. J.; Kane, J. P.; Havel, R. J.—A variant primary structure of apolipoprotein C-II in individuals of African descent *J Clin Invest*, 77: 595, 1986.
  90. Malloy, M. J.; Kane, J. P.—Hypolipidemia. *Med Clin N America*, 66: 469, 1982.
  91. Seagal, P.; Insull Jr, W.; Chambless, L. E.; Stinnett, S.; La Rosa, J. C.; Weissfeld, L.—The association of dyslipoproteinemia with corneal arcus and xanthelasma. *Circulation*, 73 (Suppl. 1): I-108, 1986.
  92. Douste-Blazy, P.; Mareel, Y. L.; Cohen, L.; Giroux, J. M.; Davignon, J.—Increased frequency of apo-E-ND phenotype and hyperapobetalipoproteinemia in normolipidemic subjects with xanthelasma of the eyelids. *Ann Int Med*, 96: 164, 1982.
  93. Grundy, S. M.; Vega, G. L.; Kesainiemi, Y. A.—Abnormalities in metabolism of low density lipoproteins associated with coronary heart disease. *Acta Med Scand*, 701 (Suppl. ): 23, 1985.
  94. Vega, G. L.; Grundy, S. M.—Comparison of apolipoproteins B to cholesterol in low density lipoproteins of patients with coronary heart disease. *J Lipid Res*, 25: 580, 1984.
  95. Vega, G. L.; Grundy, S. M.—Kinetic heterogeneity of low density lipoproteins in primary hypertriglyceridemia. *Arteriosclerosis*, 6: 395, 1986.
  96. Norum, R. A.; Lakier, J. B.; Goldstein, S.; Angel, A.; Goldberg, R. B.—Familial deficiency of apolipoproteins A-I and C-III and precocious coronary—artery disease. *N Engl J Med*, 306: 1513, 1982.
  97. Hewitt, D.; Milner, J.; Owen, A. R. G.; Breckenridge, W. C.; Maguire, G. F.; Jones, G. J. L.; Little, J. A.—The inheritance of sinking-prebeta lipoprotein and its relation to the Lp (a) antigen. *Clin Genetics*, 21: 301, 1982.
  98. Fless, G. M.; Zum Mallen, M. E.; Scanu, A. M.—Isolation of apolipoprotein (a) form lipoprotein (a). *J Lipid Res*, 26: 1224, 1986.
  99. Krempler, F.; Kostner, G. M.; Roseher, A.; Bolzano, K.; Sandhofer, F.—The interaction of human apo B-containing lipoproteins with mouse peritoneal macrophages: a comparison of Lp (a) with LDL. *J Lipid Res*, 25: 283, 1984.
  100. Reddy, M. N.—Effect of anticonvulsant drugs on plasma total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoproteins A and B in children with epilepsy. *Proe Soe Exptl Biol Med*, 180: 359, 1985.
  101. Thompson, G. R.; Myant, B.—Effect of receptors-mediated low density lipoprotein catabolism in homozygous familial hypercholesterolemia and hypothyroidism in vivo. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 78: 2591, 1981.
  102. Weidman, S. W.; Ragland, J. B.; Sabesin, S. M.—Plasma lipoprotein composition in alcoholic hepatitis: accumulation of apolipoprotein E—rich high density lipoprotein and preferential reappearance of “light”—HDL during partial recovery. *J Lipid Res*, 23: 556, 1982.
  103. Rouffy, J.; Jaillard, J.—Effects of two antihypertensive agents on lipids lipoproteins, and apolipoprotein A and B—comparison of prazosin and atenolol. *Am J Med*, 80 (Suppl. 2A): 100, 1986.
  104. Salonen, J. T.; Puska, P.; Tanskanen, A.; Virtamo, J.; Tuomihehto, J.; Huttunen, J. K.—Serum HDL cholesterol in a high coronary risk population in Eastern Finland. *Acta Med Scand*, 213: 255, 1983.
  105. Kottke, B. A.; Zinsmeister, A. R.; Holmes Jr, D. R.; Kneller, R. W.; Hallaway, B. J.; Mao, S. J. T.—Apolipoproteins, and coronary artery disease. *Mayo Clinic. Proc.*, 61: 313, 1986.