

Lipoproteína (a): Variabilidade e Associação com Coronariopatias

Doroteia Rossi Silva Souza, Marileila Varella Garcia
São José do Rio Preto, SP

Identificadas como estruturas complexas compostas de lipídios e proteínas, as lipoproteínas são formadas principalmente no fígado e no intestino e catabolizadas por tecidos hepáticos e extra-hepáticos. Essas moléculas estão envolvidas na regulação de importantes processos fisiológicos, sendo o principal o transporte de um órgão a outro de lipídios sintetizados, endogenamente ou adquiridos pela dieta, como o colesterol, os triglicerídios e os fosfolipídios ¹.

As lipoproteínas plasmáticas são partículas esféricas de alto peso molecular, com núcleos de lipídios não polares, como ésteres de colesterol e triglicerídios, revestidos por moléculas relativamente polares como fosfolipídios, colesterol livre e proteínas. Os componentes protéicos das lipoproteínas são denominados apolipoproteínas. Algumas dessas moléculas, além de componentes estruturais das lipoproteínas, podem ser também co-fatores em reações enzimáticas que afetam o seu metabolismo, ou estar envolvidas no catabolismo mediado por receptores das lipoproteínas ².

Há inúmeros tipos de apolipoproteínas já identificadas, como A-I, A-II, A-IV, B, C-I, C-II, C-III, D, E e apo(a), todas com seus genes mapeados em diversos cromossomos no genoma humano (tab. I) ³. As lipoproteínas detectadas no plasma normal, de acordo com sua densidade determinada por ultracentrifugação, são classificadas em 4 classes que diferem entre si, tanto pela composição lipídica e protéica, quanto pela função metabólica. São elas: a) *quilomicrons*, que compreendem as lipoproteínas de maior diâmetro e menor densidade. Essas lipoproteínas, ricas em triglicerídios, são responsáveis pelo transporte de lipídios obtidos por dieta e absorvidos no intestino; b) VLDL (*very low density lipoproteins*), que englobam as lipoproteínas de densidade muito baixa. Essas partículas, também ricas em triglicerídios, são formadas no fígado e transportam principalmente os triglicerídios endógenos; c) LDL (*low density lipoproteins*), lipoproteínas de baixa densidade ricas em colesterol. Derivadas das VLDL, são responsáveis pelo transporte de colesterol na circulação; d) HDL (*high density lipoproteins*), lipoproteínas de alta densidade ricas em proteínas. Formadas no fígado e no intestino, removem o colesterol

Apolipoproteína	Cromossomo	Região
A-I	11	q ¹³ -q ^{ter}
A-II	1	q ²¹ -q ²³
A-IV	11	q ¹³ -q ^{ter}
B	2	p ²³ -p ²⁴
C-I	19	q ^{13.2}
C-II	19	q ^{13.2}
C-III	11	q ¹³ -q ^{ter}
D	3	q ^{26.2} -q ^{ter}
E	19	q ^{13.2}
apo(a)	6	q ²⁷

das células dos tecidos periféricos para a circulação e daí até o fígado, de onde ele é eliminado para o intestino pelas vias biliares (transporte reverso do colesterol). Foram descritas também diversas subfrações de VLDL, LDL, HDL e uma classe de lipoproteína de densidade intermediária entre VLDL e LDL, designada por IDL, diferenciadas com base na composição e em propriedades estruturais e funcionais. A composição química das lipoproteínas e suas respectivas apolipoproteínas estão registradas na tabela II ⁴.

Inúmeros estudos epidemiológicos e de outras naturezas têm demonstrado correlação positiva dos níveis plasmáticos de colesterol total e LDL, e correlação negativa dos níveis de HDL com doença aterosclerótica arterial coronária ⁵⁻⁹.

Uma outra lipoproteína também reconhecida como fator de risco para a cardiopatia arterial coronária é a lipoproteína(a) ou Lp(a) ¹⁰, cuja real participação no processo aterosclerótico ainda é motivo de polêmica. A Lp(a) tem despertado o interesse de muitos pesquisadores e, por isso, atualmente é objeto de estudo em vários centros de dislipidemias. A importância do problema e a controvérsia ainda existente justificam uma abordagem mais ampla e crítica sobre o tema, que se pretende apresentar nesta revisão.

Estrutura da Lipoproteína (a)

A Lp(a), descrita por Berg ¹¹ há 30 anos, caracteriza-se como uma partícula esférica de 250 Å de diâmetro com densidade de 1,058 a 1,180g/ml. Sua composição lipídica assemelha-se à da LDL (tab. II). A parte protéica, correspondente a 33% da partícula, consiste das apoproteínas apoB-100, também presente em LDL, e apo(a), ambas com alto peso molecular e interligadas por

Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho - UNESP, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE - São José do Rio Preto, SP.

Correspondência: Doroteia Rossi Silva Souza

Rua Las Vegas, 611 - Cond. Débora Cristina - CEP 15093-010 - São José do Rio Preto, SP

Recebido para publicação em 4/2/94

Aceito em 1/3/94

Tabela II - Composição química de lipoproteínas humanas, seu diâmetro, densidade e os respectivos tipos de apolipoproteínas.

Classe	Composição química (%)							Tipo
	Diâmetro (Å)	Densidade (g/ml)	Triglicerídios	Fosfolipídios	Colesterol	Ésteres de colesterol	Proteína	
							%	
Quilomicrom	750-12000	0,94	86	7	2	3	2	A-I, A-II, A-IV B-48, C-I, C-II C-III, E
VLDL	300-800	0,94-1,006	55	18	7	12	8	B-100, C-I C-II, C-III, E
IDL	250-350	1,006-1,019	23	19	9	29	19	B-100, E
LDL	180-300	1,019-1,063	6	22	8	42	22	B-100
HDL	50-120	1,063-1,210	4	28	5	15	48	A-I, A-II, A-IV C-I, C-II, C-III D, E
Lp(a)	300	1,055-1,085	3	22	9	33	33	B-100, apo(a)

pontes dissulfeto^{12,13} (fig. 1). O complexo apoB-100 - apo(a) tem propriedades anfipáticas, interagindo com o meio aquoso através da apo(a) e com lipídios pela apoB-100. A ligação covalente entre apoB-100 e apo(a) permite a separação em bloco desse complexo protéico, que pode ser detectado no plasma em pequenas quantidades, aparentemente livres de lipídios^{13,16,17}, ou associado a partículas ricas em triglicerídios^{18,19}.

A apoB-100, sintetizada no fígado e no intestino, não exibe variação na conformação e no peso molecular (550 KD). Por outro lado, a apo(a) é uma glicoproteína de grande tamanho, sintetizada primariamente no fígado²⁰, com expressão também no cérebro e glândulas adrenais²¹. Sua fração protéica apresenta considerável heterogeneidade de peso molecular (280-850KD)²²⁻²⁵ decorrente de polipeptídios de diferentes tamanhos e/ou diferentes extensões de glicosilação²⁶, tendo em vista que esta molécula é rica em carboidratos, principalmente em

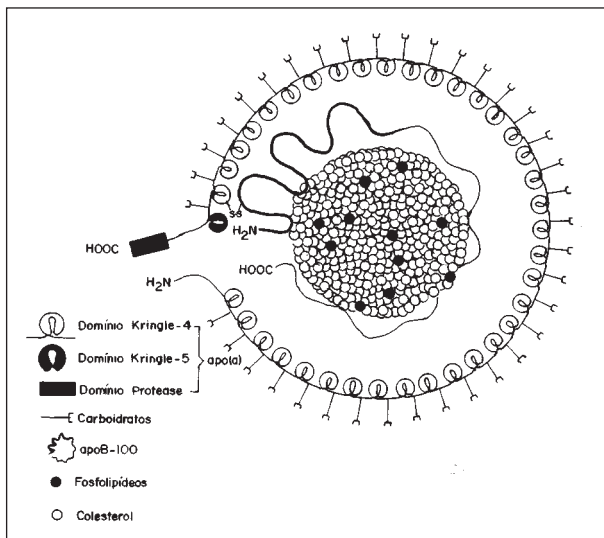


Fig. 1 - Modelo esquemático da lipoproteína (a) com a superfície externa representada por fosfolipídios, colesterol e apolipoproteínas apo(a), com carboidratos e os domínios *kringles* IV e V e protease e apoB-100, ligadas por pontes dissulfeto (modificado de Utermann, 1989; Lawn, 1992)^{14,15}

ácido siálico que representa 30-50% do total de carboidratos, cerca de 6 vezes mais do que apresenta a apoproteína da LDL^{12,27,28}. Desta forma, é originado um polimorfismo de tamanho no nível populacional, mas individualmente o padrão é característico e constante.

O seqüenciamento do DNA complementar (cDNA) da apo(a) humana revelou um alto grau de homologia molecular com o plasminogênio^{21,22} (fig. 2). Essa homologia foi também demonstrada por estudos imunológicos pela reatividade cruzada destas moléculas^{29,30}. Além disso, os locos gênicos do plasminogênio e da apo(a) localizam-se no cromossomo 6(q26-27)³¹. Isso estimulou investigações na tentativa de esclarecer a aterogenicidade da Lp(a) através de sua interferência na fibrinólise. Há evidências *in vitro* que suportam essa idéia, em que a Lp(a) impede a ligação do plasminogênio nos sítios de ligação nas células endoteliais³². É possível que a Lp(a) entre em competição com o plasminogênio pelos seus receptores presentes nas hemácias e no endotélio, promovendo a trombólise³³.

O plasminogênio pertence a uma superfamília de proteínas composta de proteases reguladoras dos sistemas fibrinolítico e de coagulação sanguínea, na qual incluem-se a enzima fibrinolítica plasmina, os ativadores do plas-

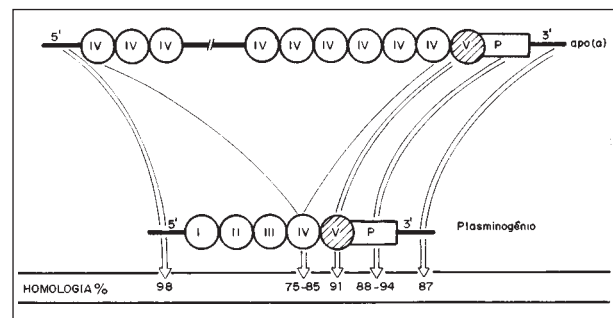


Fig. 2 - Comparação da seqüência estrutural dos DNA complementares (cDNA) da apo(a) e do plasminogênio representados pelas regiões 5' e 3' e pelos sítios responsáveis por seus respectivos domínios *kringles* I, II, III, IV e V e protease (P). A homologia existente entre a apo(a) e o plasminogênio é revelada em porcentagem (modificado de McLean e col, 1987)²¹.

minogênio, os inibidores da plasmina e do plasminogênio, o fibrinogênio e a fibrina. Essa glicoproteína de cadeia única, com peso molecular de 92 a 94KD, consiste de 790 aminoácidos contendo 24 pontes dissulfeto³⁴. Uma parte do plasminogênio é representada por 5 sítios homólogos (I a V) denominados *kringles* por terem estrutura em forma de rosca dinamarquesa, que são repetidos em seqüência e estabilizados por 3 pontes dissulfeto. Estruturas do tipo *kringle* foram identificadas em uma série de proteínas desses sistemas, incluindo protrombina, ativador do plasminogênio tecidual (tPA), uroquinase, fator XII de coagulação e fibronectina¹⁴.

O gene de apo(a) é responsável por uma proteína com 4.529 aminoácidos codificada por um RNA mensageiro (mRNA) longo de 14kb. Ele foi estruturalmente analisado por McLean e col²¹, que detectaram um segmento responsável pelo domínio protease de apo(a) com 88% de aminoácidos idênticos a domínio equivalente no plasminogênio. Além disso, o gene da apo(a) apresenta segmentos referentes a 2 tipos de domínios *kringles* homólogos aos do plasminogênio: o IV, com 342 pares de bases e presente em múltiplas cópias, e o V, presente em cópia única. Entretanto, existem algumas diferenças entre as estruturas homólogas de apo(a) e plasminogênio. Enquanto o plasminogênio pode ser convertido a uma protease ativa por uroquinase ou estreptoquinase, a apo(a) não pode, devido à substituição de um único aminoácido, isto é, de serina por arginina, na posição onde o plasminogênio é clivado no momento em que o zimógeno é convertido à protease ativa. Outra diferença consiste na presença de uma cisteína a mais em um dos *kringles* IV de apo(a), que deve facilitar a ligação covalente de apo(a) com apoB-100²¹.

As seqüências de conexão entre as unidades *kringle* IV, incluindo o final de um *kringle* e o início do seguinte, apresentam 6 sítios com potencial de ligação para açúcares ligados a oxigênio, e um sítio para um açúcar ligado a nitrogênio. Isso significa que na apo(a) existem 253 sítios com potencial de glicosilação, o que não ocorre no plasminogênio. A glicosilação nesses sítios, justificando a fraca ligação de Lp(a) com fibrina²¹, é provável, visto que a Lp(a) é rica em carboidratos, correspondentes a 28,1% de seu peso, e contém ainda manose, galactose, galactosamina, glucosamina e ácido siálico, na proporção molar respectivamente de 3:7:5:4:7^{14,28}. Por outro lado, resultados de estudos desenvolvidos por Smith e Crosbie³⁵ relacionaram a aterogenicidade da Lp(a) com sua propensão de se ligar à fibrina, fornecendo o acúmulo de lipídios nas lesões ateroscleróticas. De fato, a homologia estrutural entre uma lipoproteína aterogênica e o plasminogênio, precursor da enzima proteolítica com função na clivagem do coágulo de fibrina, pode favorecer também semelhança funcional, com suspeita de que a Lp(a) seja elo de ligação entre aterosclerose e trombose³⁶.

Herança e Variabilidade de Lp(a)

A Lp(a), inicialmente descrita como uma variante genética da LDL, foi considerada por Berg¹¹ como uma característica genética qualitativa com padrão de herança autossômica dominante, sob o controle de 2 alelos Lp^a e Lp^o. Entretanto, a distribuição contínua de concentrações de Lp(a) no plasma em diferentes populações, tornou-se um desafio para essa suposição, e métodos imunológicos quantitativos logo demonstraram que a Lp(a) representava uma característica genética quantitativa³⁷. Entre as inúmeras hipóteses propostas para explicar a herança dos níveis plasmáticos de Lp(a), incluem-se modelos poligênicos e a presença de um loco principal^{23,38-43}.

A descoberta de polimorfismo genético de tamanho da apo(a) permitiu esclarecimentos sobre a característica genética da Lp(a). Utermann e col^{43,44} identificaram um loco gênico como o principal na determinação das concentrações de Lp(a) no plasma. Através de um sistema de eletroforese em gel de poliacrilamida - SDS, seguido de *immunoblotting* com anticorpos poli ou monoclonais contra apo(a), aplicado em estudo de 247 indivíduos de diferentes famílias, Utermann e col⁴⁴ revelaram 6 isoformas de apo(a) com peso molecular, variando de 400 a 700KD. As isoformas foram classificadas como F, B, S1, S2, S3 e S4, de acordo com seu padrão de mobilidade eletroforética em comparação a apoB-100, em que F representa uma isoforma de migração mais rápida que apoB-100, B é semelhante a apoB-100 e S representa o conjunto de isoformas mais lentas que apoB-100, em vários níveis.

As isoformas são determinadas por alelos de um único loco, identificado como o da glicoproteína da Lp(a). Os indivíduos apresentam 1 ou 2 isoformas, reveladas por padrões de bandas específicos ou ausência de banda. Utermann e col⁴⁴ referiram-se à presença de um alelo nulo em indivíduos nos quais a apo(a) não foi detectada. Entretanto, esses autores alertaram que a definição de alelo nulo no sistema de Lp(a) é operacional, tendo em vista a acentuada dependência da sensibilidade da técnica. Diversos pesquisadores excluem a possibilidade da existência de indivíduos verdadeiramente Lp(a) negativos^{37,45}.

Estudos recentes sugerem que a apo(a) é consideravelmente mais heterogênea do que já registrado por alguns autores, que referiram 12 a 16 fenótipos para apo(a) em humanos^{44,46,48}. Rainwater e col⁴⁴ detectaram em *baboons*, 31 fenótipos para essa proteína, enquanto que Gaubatz e col²⁴ observaram 11 isoformas e 66 fenótipos para a glicoproteína da Lp(a) em 631 indivíduos de 45 a 64 anos participantes do projeto "Comunidades com Risco de Aterosclerose", provenientes de 4 estados americanos.

A transmissão genética dos fenótipos de apo(a) é apoiada por inúmeras observações. Por um lado as isoformas detectadas em descendentes são sempre observadas pelo menos num dos pais. Por outro lado, fenótipos

de apo(a) raros, na população, foram vistos regularmente entre os descendentes de indivíduos deles portadores. Além disso, quando um progenitor tem fenótipo de banda dupla e outro tem Lp(a) negativa, foram detectados somente fenótipos de banda única na descendência⁴⁴.

O conjunto dessas informações apóia um modelo de herança em que uma série de alelos autossômicos co-dominantes, designados como Lp(a)^F, Lp(a)^B, Lp(a)^{S1}, Lp(a)^{S2}, Lp(a)^{S3}, Lp(a)^{S4} e Lp(a)^o, definido como operacionalmente nulo, controla o polimorfismo da glicoproteína de Lp(a)^{23,43,44}. Concordantes com esse modelo, Boerwinkle e col⁴⁷ assumem também que alelos codominantes apresentam dominância sobre o alelo nulo operacional.

A frequência relativa para os diversos alelos de apo(a) foi determinada por esses mesmos autores em 473 indivíduos selecionados ao acaso. A frequência do alelo nulo foi estimada em 0,55, as frequências de S2, S3 e S4 foram 0,12, 0,13, e 0,16, respectivamente, enquanto que os alelos S1 e B foram bem menos freqüentes e o F é raríssimo. Os autores justificaram a diferença significativa entre os valores esperados em situação de equilíbrio genético e as frequências obtidas para os respectivos alelos, por possíveis problemas técnicos na classificação de fenótipos de apo(a), especialmente com respeito ao alelo nulo. Indivíduos classificados como portadores do alelo nulo poderiam ter deixado de expressar seu verdadeiro genótipo devido aos níveis baixos de Lp(a) no plasma. Além disso, indivíduos heterozigotos com banda dupla, poderiam ser erroneamente classificados como portadores de banda única, devido a concentração de apo(a) correspondente a uma das bandas ser inferior ao limite do teste, conforme suspeitado inicialmente por Utermann e col²³.

Utermann e col⁴⁴ detectaram uma associação altamente significativa entre as concentrações de Lp(a) no plasma e os fenótipos de apo(a), sendo as isoformas B, S1 e S2 associadas a concentrações altas de Lp(a), e as isoformas S3 e S4 associadas a baixas concentrações. Uma estreita relação inversa é detectada entre as concentrações de Lp(a) no plasma e o peso molecular das isoformas de apo(a). Utermann¹⁴ referiu que a concentração média de Lp(a) em indivíduos com apo(a) do tipo B é 10 vezes mais alta do que a do tipo S4. Os heterozigotos normalmente apresentam concentrações de Lp(a) aproximadamente iguais à soma dos respectivos tipos de bandas únicas⁴⁷. Isso sugere que o mesmo loco gênico está envolvido, tanto na determinação de fenótipos de apo(a) como nas concentrações de Lp(a) no plasma e que os alelos de apo(a) afetam as concentrações de Lp(a) de um modo aditivo. De fato, para cada fenótipo existe uma grande heterogeneidade nos valores de Lp(a), intra e interpopulações, com concentrações de Lp(a) variando de 0,2 a 200mg/dl no plasma humano⁵⁰. Estudos populacionais revistos por Utermann¹⁴ mostraram que em caucásios, cujos níveis de Lp(a) são baixos, com média entre 15 e 16mg/dl e com 5% apresentando valores meno-

res do que 1mg/dl, o alelo do tipo Lp(a)^B é raro, enquanto que o alelo Lp(a)^{S4} responsável por concentrações baixas de Lp(a) é o mais freqüente. Níveis de Lp(a) inferiores foram detectados em chineses, com valor médio de 7mg/dl, justificando a freqüência extremamente alta do alelo Lp(a)^{S4} registrada nessa população. Por outro lado, concentrações mais elevadas foram observadas em populações de indianos e sudaneses, com níveis médios de Lp(a) de 20 e 45mg/dl, respectivamente. Médias elevadas de Lp(a) plasmático foram registradas também em populações de negros americanos e africanos, com aumento de até 2 vezes comparado ao nível de Lp(a) de populações caucásicas³³. Nesse caso, os níveis elevados de Lp(a) registrados estão associados, provavelmente, à freqüência mais elevada dos alelos B, S1 e S2.

Entretanto, a relação entre o tipo de apo(a) e a concentração de Lp(a) não é tão simples como parece. Boerwinkle e col⁴⁷, em estudo avaliativo da contribuição dos fenótipos de apo(a) na variação de lipídios, referiram-se à grande variabilidade de concentrações de Lp(a) associada a isoforma do tipo S2. Os autores sugeriram que esse tipo específico de apo(a) pode estar envolvido com tal variabilidade porque a classe fenotípica S2 contém indivíduos que são homozigotos S2/S2 e heterozigotos S2/O. Além disso, o alelo S2 pode ser heterogêneo em nível molecular, ou ainda, a heterogeneidade pode ser causada por algum outro fator que modifica o efeito do alelo S2. Por fim, a variabilidade permanente nos níveis de Lp(a) pode ser explicada pela presença de outros locos gênicos ou, ainda, pela imensurável heterogeneidade do loco apo(a).

Com base em estudos moleculares foi possível detectar uma correlação clara do *kringle IV* com massa molecular de apo(a). A ampla heterogeneidade do tamanho de apo(a) reflete uma diferença no número de repetições do *kringle IV*. Assim sendo, pode-se esperar diferenças no tamanho do mRNA entre indivíduos com diferentes isoformas no plasma. De fato, o tamanho de mRNA para apo(a) varia de 10 a 14Kb, com alguns indivíduos apresentando 2 espécies de mRNA¹⁴. É evidente que os níveis de Lp(a) estão sob forte controle genético, entretanto há dificuldade em se determinar o real valor da variabilidade genética atuante sobre a variabilidade dos níveis de Lp(a) no plasma. Hasstedt e Williams⁴² referiram que 73% da heterogeneidade das concentrações plasmáticas de Lp(a) é efeito da variabilidade genética. Boerwinkle e col⁴⁷ revelaram níveis médios de Lp(a) significativamente diferentes entre os tipos de apo(a). Contudo, os autores sugeriram que apenas cerca de 40% dessa variabilidade poderia ser atribuída a diferenças no tipo de apo(a). Por outro lado, Boerwinkle e Hixson⁵¹ sustentaram que 98% da variação fenotípica de Lp(a) é causada por fatores genéticos.

Krempler e col⁵² demonstraram que as concentrações de Lp(a) são determinadas, mais pela velocidade de síntese do que por diferenças no catabolismo da Lp(a).

Isso sugere que os processos de síntese, montagem ou secreção da Lp(a) se relacionam com a estrutura da apo(a), conforme observado por Utermann e col⁴⁴.

Não há dúvidas de que os níveis de Lp(a) no plasma variam amplamente entre os indivíduos, sem influência de sexo nem idade, mas o fator racial é importante, como referido anteriormente. Entretanto, o nível de Lp(a) no plasma parece manter-se constante em cada indivíduo^{41, 42, 50, 53, 54}, a não ser diante de situações de estresse. Maeda e col⁵⁵ detectaram alterações transitórias nos níveis de Lp(a) no plasma de indivíduos em fase aguda de infarto do miocárdio e após procedimentos cirúrgicos em geral. No grupo de infartados, que tinham nível médio de Lp(a) de 18mg/dl antes do episódio, observou-se um aumento linear na concentração de Lp(a), até o nível médio de 221mg/dl após 11 dias do episódio agudo. Os aumentos ocorreram independentemente dos níveis iniciais de Lp(a), que variaram de 3-86mg/dl entre os infartados e de 5-75mg/dl no grupo submetido a cirurgias, e os níveis de Lp(a) retornaram aos valores iniciais após um mês ou mais dos eventos.

Os episódios agudos podem afetar os níveis de Lp(a), aumentando sua produção e/ou reduzindo sua remoção. A síntese e secreção poderiam justificar o aumento, visto que as proteínas de fase aguda estão presentes em níveis elevados após horas ou dias de lesões agudas dos tecidos ou inflamações. Além disso, o ácido siálico presente na Lp(a) também é freqüentemente localizado em proteínas de fase aguda. A possibilidade da participação do fígado na formação de Lp(a) não é descartada, tendo em vista que os níveis de Lp(a) diminuem em pacientes com doenças hepatobiliares⁵⁶. Portanto, é esperado que a produção de Lp(a) seja também aumentada no fígado, juntamente com a de proteínas de fase aguda.

Flutuações similares nos níveis de Lp(a) no plasma foram detectados em gestantes e em fase pós-parto⁵⁷. Mulheres com níveis de Lp(a) acima de 10mg/dl no início de gravidez apresentaram, após 8 semanas, nível médio de Lp(a) de 23,7mg/dl, que se elevou linearmente até 58,2mg/dl na 19ª semana, correspondendo a um aumento de cerca de 5 vezes o nível inicial. A partir desse período, houve um rápido declínio até o parto na 38ª semana, com nível médio de 23mg/dl, que foi reduzido a 21,8mg/dl em 6 a 8 semanas de pós-parto. A ausência de correlação do aumento da concentração de Lp(a) com dosagens hormonais, níveis de apoB e de colesterol total acentua a independência metabólica de Lp(a). Neste caso, tendo em vista que a Lp(a) exporta colesterol para fora do fígado, o nível aumentado de Lp(a) seria importante para a síntese de hormônios esteróides.

Lp(a) e Aterosclerose

O interesse clínico pela Lp(a) acentuou-se à medida que estudos epidemiológicos reforçam a associação positiva entre concentrações plasmáticas altas desta lipo-

proteína, infarto do miocárdio em pessoas jovens e doenças cerebrovasculares. Níveis acima de 20-30mg/dl, presentes em cerca de 25% da população, são associados com aumento no risco da doença aterosclerótica⁵⁰, relativo a 2 ou 3 vezes o risco de infarto do miocárdio, independente de outros fatores de risco⁵³. Hoeffler e col⁵³ detectaram incidência de infarto do miocárdio 2,5 vezes maior entre pais de jovens com níveis de Lp(a) acima de 25mg/dl. Armstrong e col⁵⁹ registraram níveis de Lp(a) abaixo de 5mg/dl em 60% dos indivíduos sem doença arterial coronariana, enquanto que apenas 42% dos pacientes com a doença se apresentaram nessa categoria. Por outro lado, níveis elevados de Lp(a) de até 75mg/dl foram freqüentemente observados nesses pacientes, sendo 42mg/dl o valor máximo detectado no grupo controle.

Entretanto, ainda permanecem dúvidas sobre se concentrações elevadas de Lp(a) são fatores de risco significantes para indivíduos normolipidêmicos¹⁴. Guyton e col⁶⁰ registraram níveis mais elevados de Lp(a) em uma população de negros normolipidêmicos, comparada a uma população caucasóide, apesar de existir entre os negros baixa incidência de aterosclerose. Curiosamente, as concentrações de LDL nos negros eram inferiores às dos brancos. A perda de aterogenicidade da Lp(a) na população de negros foi atribuída por Armstrong e col⁵⁹ aos níveis baixos de LDL. De qualquer modo, está confirmado que o risco relativo de infarto do miocárdio aumenta significativamente em indivíduos com altas concentrações de Lp(a) e LDL. Armstrong e col⁵⁹ detectaram riscos de 1,4 a 1,7 vezes maiores de doença arterial coronariana em indivíduos com Lp(a) acima de 30mg/dl e níveis de LDL reduzidos, enquanto que em indivíduos com níveis de Lp(a) e de LDL acima do normal, o risco aumentou de 4,5 a 6,3 vezes. Utermann¹⁴ estimou que concentrações de Lp(a) acima de 50mg/dl e níveis altos de LDL aumentam de 6 vezes o risco da doença arterial coronariana prematura.

A associação de valores elevados de Lp(a) e de colesterol total com doença arterial coronariana também foi referida por Armstrong e col⁵⁹ em população caucasóide a partir de níveis de colesterol de 265mg/dl e por Murai e col⁶¹ em população japonesa, embora com níveis de colesterol total inferiores. O nível elevado de Lp(a) plasmático tem sido considerado um fator de risco, tanto para homens como para mulheres. Entretanto, Lobo e col⁶² observaram que esse efeito é mais acentuado em mulheres, sugerindo que a Lp(a) tem um valor preditivo para doenças cardiovasculares no sexo feminino.

O estilo de vida, como a prática de exercícios e o tratamento com estrogênio foram os parâmetros considerados por Lobo e col⁶² em associação com os níveis de Lp(a) em mulheres de 40 a 55 anos. O exercício físico apresentou decréscimo de 2,5% sobre a Lp(a), que consiste em um efeito mínimo, não significativo. Por outro lado, o tratamento com estrogênio permitiu redução de até 31,7% no nível de Lp(a). Entretanto, isso não lhe confe-

re a capacidade de reduzir o risco de doença cardiovascular, tendo em vista que a redução acentuada do nível de Lp(a) foi detectada apenas em pacientes que já tinham níveis baixos de Lp(a). A diminuição do nível de Lp(a) foi também associada a aumento dos níveis de triglicerídios e VLDL, sugerindo interferência do estrogênio oral sobre a Lp(a), através de um mecanismo envolvido com a síntese dessas partículas.

A alta prevalência de doença arterial coronariana entre pacientes com doença vascular periférica reflete a natureza difusa do ateroma⁶³. A doença vascular periférica ocorre principalmente em homens e parece associar-se positivamente a tabagismo, hipertensão e diabetes e em menor extensão a hipercolesterolemia^{64,65}. É evidente uma associação entre essa doença e concentrações altas de Lp(a). Tyrrell e col⁶⁶ detectaram, entre pacientes do sexo masculino com doença vascular periférica, nível médio de Lp(a) de 39,6mg/dl, quase 3 vezes maior do que o do grupo controle, que tinha 13,5mg/dl. Nas mulheres com a doença, a concentração média de Lp(a) foi de 34,7mg/dl, 2 vezes maior que a do grupo controle com 15,2mg/dl. Groves e col⁶⁷, similarmente, observaram concentrações altas de apo(a) em pacientes com doença vascular ateromatosa associada a doença arterial coronariana. Apesar da associação entre a patogênese de coronária e ateromas periféricos ser bem reconhecida, a relação entre o nível de apo(a) e a gravidade da doença nem sempre foi detectada⁶⁶.

Estudos prospectivos desenvolvidos por Rosengren e col⁶⁸ revelaram níveis de Lp(a) preditivos de infarto do miocárdio e morte súbita. Esses estudos têm importância também no prognóstico da doença vascular periférica, tendo em vista o aumento dos níveis de triglicerídios e colesterol e a redução de HDL relacionados com a etiologia dessa doença^{64,65}. Além disso, é possível que esses pacientes tenham um fenótipo particular de Lp(a)⁶⁶. Mais recentemente, têm sido criadas estratégias metodológicas para descobrir variáveis que possam ser usadas como fatores preditivos e risco da doença arterial coronariana. Em consequência, muitos polimorfismos foram identificados nos genes das apolipoproteínas, alguns dos quais associados com risco aumentado de infarto do miocárdio^{69,70}.

O gene de apoB, que permite a ligação de lipoproteínas e receptores celulares⁷¹, foi clonado e mapeado por Ludwig e col⁷². Localizado no cromossomo 2 (2p23-p24), tem 43kb, com um segmento de 81 pares de bases codificando um peptídeo marcador de 27 aminoácidos, no qual recentemente foi localizado um polimorfismo genético⁷³. Dois alelos caracterizam esse polimorfismo na população caucasóide: o alelo inserção (INS) com 27 aminoácidos, que é o mais comum, e o alelo deficiente (DEL) com 25 aminoácidos. Visvikis e col⁷⁰ analisaram tais alelos em populações de Belfast (Reino Unido), Strasbourg (França) e Toulouse (França), incluindo pacientes com infarto do miocárdio e grupos controle. Não foi de-

tectada diferença significativa na frequência de distribuição dos genótipos entre os pacientes e controles, ou entre as populações. Contudo, foram observadas associações significativas entre polimorfismo de apoB e níveis de colesterol total, LDL, apoB e Lp(a) na população de Strasbourg. Indivíduos homozigotos do alelo DEL apresentaram níveis elevados de todos esses lipídios.

O alelo DEL determina a ausência de aminoácidos que poderia alterar a hidrofobicidade do peptídeo marcador. Conseqüentemente, haveria alteração na velocidade da translocação de apoB do citoplasma até o retículo endoplasmático, alterando a secreção de apoB dos hepatócitos na forma de LDL e Lp(a). A frequência alta do alelo DEL em pacientes de Belfast, onde o risco de doença arterial coronariana é alto, sugere que esse alelo contribui para a prevalência de doença arterial coronariana em populações. O efeito de um alelo pode diferir entre populações, porque sua expressão fenotípica é consequência de interações múltiplas. Essas interações podem resultar na associação de um certo alelo com as condições que favorecem o aparecimento da doença arterial coronariana em um ambiente e de outros alelos do mesmo gene com as mesmas condições em outro ambiente. As associações relatadas no estudo de Visvikis e col⁷⁰ poderiam ser resultado de interações entre variantes alélicas de muitos genes e de interações com diferentes fatores ambientais, especialmente os nutricionistas, que diferem acentuadamente entre as populações estudadas.

Hansen e col⁷⁴ verificaram que a associação entre polimorfismo de apoB e variação lipídica depende acentuadamente da superfície corpórea do indivíduo. Resultados semelhantes foram observados em estudos sobre o alelo de apo E e concentração de colesterol no plasma por Gerdes e col⁷⁵. Tais achados, segundo esses autores, também poderiam ser resultados de interações gene-gene ou gene-ambiente, dado que as variações na superfície corpórea são dependentes de fatores genéticos e ambientais. Um outro aspecto que merece destaque é a relação entre polimorfismo de apoB e os níveis de Lp(a), que é constante entre as três populações estudadas por Visvikis e col⁷⁰, em contraste com a relação observada com os outros parâmetros lipídicos. Em todas as populações, os homozigotos do alelo DEL apresentaram níveis mais elevados de Lp(a) do que os homozigotos do alelo INS ou os heterozigotos INS/DEL. Pelo fato da apoB ser uma proteína da Lp(a), uma associação entre elas não seria surpreendente. Os autores propõem que a associação entre o polimorfismo de apoB e o nível de Lp(a) seja o resultado de uma relação coincidente entre dois fatores de risco independentes para a aterosclerose, ou seja, a concentração alta de Lp(a) é um preditivo independente e significativo de doença arterial coronariana, associada com o nível aumentado de LDL ou reduzido de HDL. A diferença entre a Lp(a) e essas outras lipoproteínas é que os níveis de Lp(a) são fortemente influenciados pelo material hereditário, conforme referido anteriormente. A variação gené-

tica no loco de apoB, portanto, pode ser um fator de risco independente para o infarto do miocárdio, como já proposto por Hegele e col⁶⁹.

A associação entre Lp(a) e doença arterial coronariana ainda necessita de esclarecimentos, mas poderia ser determinada com base aterogênica e/ou trombogênica. Uma análise de enxerto aorto-coronário mostrou que a relação de apo(a) em tecido e apo(a) no plasma é 2 vezes maior que a relação de apoB em situação semelhante⁷⁶, refletindo provavelmente uma acentuada ligação, ou um clearance lento de apo(a) pela parede do vaso. O potencial trombogênico de apo(a) ainda é uma hipótese, mas sua homologia com o plasminogênio poderia resultar teoricamente em inibição por competição por parte da apo(a), das propriedades fibrinolíticas do plasminogênio⁷⁷.

Verifica-se, portanto, que embora de interesse prático, muitos aspectos do metabolismo, função e regulação das concentrações de Lp(a) no plasma ainda não estão bem definidos e, possivelmente, seu papel principal ainda esteja para ser determinado. As evidências até aqui acumuladas reforçam o potencial aterogênico da Lp(a), estimulando estudos direcionados para esclarecer sua função da Lp(a) como fator de risco da doença arterial coronariana associada a doenças genéticas de metabolismo de lipoproteínas e a outras lipoproteínas no plasma.

Agradecimentos

Aos Profs Drs Domingo M. Braille e Carlos Roberto Ceron pela análise crítica do trabalho e a CAPES pelo apoio.

Glossário

Alelo - uma das várias formas de um mesmo gene, determinado por mudanças na seqüência do DNA.

Alelo autossômico - uma das formas de um mesmo gene presente em um cromossomo não ligado ao sexo.

Alelo deficiente - ausência de um ou mais nucleotídeos em um segmento da cadeia de DNA que caracterizam alelos específicos.

Alelo inserção - inserção de um ou mais nucleotídeos em um segmento do DNA que caracterizam alelos específicos.

Genótipo - constituição genética expressa e latente de um organismo.

Heterozigoto - organismo com componentes diferentes de um determinado par ou série de alelos.

Homozigoto - organismo cujos cromossomos carregam membros idênticos de um determinado par de alelos.

Loco gênico - posição fixa em um cromossomo ocupada por um determinado gene ou par de seus alelos.

Nucleotídeos - unidade da molécula de DNA contendo um fosfato, um açúcar e uma base orgânica.

Polimorfismo - a existência de dois ou mais genótipos para uma determinada característica em uma população.

Referências

- Morrisett JD, Guyton JR, Gaubatz JW, Gotto JR AM - Lipoprotein (a); structure, metabolism and epidemiology. In: Gotto Jr AM (ed) - Plasma Lipoproteins. Amsterdam, Elsevier 1987; 129.
- Zannis VI - Molecular biology of human apolipoprotein B and E and associated diseases of lipoprotein metabolism. Adv Lip Res 1989; 23: 1-64.
- Human Gene Mapping II - Cytogenet Cell Genetics 1991; 58: 2200.
- Martinez TLR - Lipoproteínas: bioquímica e metabolismo. Rev Bras Med 1989; 46: 5-12.
- Campeau L, Enjalbert M, Lesperance J et al - The relation of risk factors to the development of atherosclerosis in saphenous-vein bypass grafts and the progression of disease in the native circulation. A study 10 years after aortocoronary bypass surgery. N Eng J Med 1984; 311: 1329-32.
- Nikkila EA, Viikinkoshi P, Valle M, Frick MH - Prevention of progression of coronary atherosclerosis by treatment of hyperlipidemia: a seven year prospective angiographic study. Br Med J 1984; 289: 220-3.
- Pyorala K - Coronary heart disease: differences in the occurrence between populations and changing trends within populations: relationship to serum cholesterol levels. In: Grundy SM, Bearn AG - The Role of Cholesterol in Atherosclerosis. Philadelphia, Hanley & Belfus Inc 1987; 143-62.
- Lewis B - Desirable plasma lipid and lipoprotein levels in adults. In: Grundy SM, Bearn AG - The Role of Cholesterol in Atherosclerosis. Philadelphia, Hanley & Belfus Inc 1987; 163-74.
- Imura H, Tsuda K - Atherosclerosis and lipid metabolism in the Japanese. In: Grundy SM, Bearn AG - The Role of Cholesterol in Atherosclerosis. Philadelphia, Hanley & Belfus Inc 1987; 185-95.
- Renninger W, Wendt GG, Nawrock P, Weigand H - Blistragzur problematik des Lp septem. Humangenetik 1965; 1: 658-67.
- Berg K - A new types septem in man-Lp septem. Acta Pathol Scand 1963; 59: 386-82.
- Ehnholm CH, Garoff H, Simons K, Aro H - Purification and quantification of the human plasma lipoprotein carrying the Lp(a) antigen. Biochim Biophys Acta 1971; 236: 431-39.
- Gaubatz JW, Heideman C, Gotto Am et al - Human plasma lipoprotein (a) structural properties. J Biol Chem 1983; 258: 4582-9.
- Utermann G - The mysteries of lipoproteins (a). Science 1989; 246: 904-10.
- Lawn RM - Lipoprotein (a) in heart disease. Scientific Am 1992; 246: 26-32.
- Gries A, Nimpf J, Nimpf M, Wurm H, Kostner GM - Free and apo-B associated Lp(a) specific protein in human serum. Clin Chim Acta 1987; 164: 93-100.
- Fless GM, Pfaffinger DJ, Eisenbart JD, Scanu AM - Solubility, immunochemical, and lipoprotein binding properties of apoB-100 apo(a) the protein moiety of lipoprotein (a). J Lip Res 1990; 31: 909-18.
- Bersot TP, Innerarity TL, Pitas RE, Stanleu CR Jr, Weisgraber RH, Mahley RW - Fat feeding in human induces lipoprotein of density less than 1.006 that are enriched in apoprotein(a) and that cause lipid accumulation in macrophages. J Clin Invest 1986; 77: 622-30.
- Pfaffinger D, Schuelke J, Klin L, Fless GM, Scanu AM - Relationship between apo(a) isoforms and Lp(a) density in subjects with different apo(a) phenotype: a study before and after a fatty meal. J Lipid Res 1991; 32: 679-83.
- Koschinsky ML, Beisiegel U, Henne-Bruns D, Eaton DL, Lawn RM - Apolipoprotein (a) size heterogeneity is related to variable number of repeat sequences in its mRNA. Biochemistry 1990; 29: 640-4.
- McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ et al - cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. Nature 1987; 300: 132-7.
- Eaton DL, Fless GM, Kohr WJ et al - Partial amino acid sequence of apolipoprotein (a) shows that it is homologous to plasminogen. Proc Natl Acad Sci 1987; 84: 3224-8.
- Utermann G, Duba C, Menzel HJ - Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait II. Inheritance of Lp(a) glycoprotein phenotypes. Hum Genet 1988a; 78: 47-50.
- Gaubatz JW, Ghanem KI, Guevara J Jr, Nava ML, Patsh W, Morrisett JD - Polymorphism from of human apoprotein (a): inheritance and relationship of their molecular weights to plasma levels of lipoprotein (a). J Lipid Res 1990; 31: 603-13.
- Guo HC, Chapman MJ, Bruckert E, Fariaux JP, Gennes JL - Lipoprotein Lp(a) in homozygous familial hypercholesterolemia: density profile, particle heterogeneity and apolipoprotein (a) phenotype. Atherosclerosis 1991; 31: 69-83.
- Gaubatz JW, Chari MV, Nava ML, Greyton JR, Morrisett JD - Isolation and characterization of the two major apoproteins in human lipoprotein (a). J Lipid Res 1987; 28: 69-79.
- Ehnholm CH, Garoff H, Renkonen O, Simons K - Protein and carbohydrate composition of Lp(a) lipoprotein from human plasma. Biochemistry 1972; 11: 3229-32.

28. Fless GM, Zummallen ME, Scanu AM - Physicochemical properties of apolipoprotein (a) and lipoprotein (a) derived from the dissociation of human plasma lipoprotein (a). *J Biol Chem* 1986; 261: 8712-18.
29. Karadi I, Kostner GM, Gries A et al - Lipoprotein (a) and plasminogen are immunochemically related. *Biochim Biophys Acta* 1988; 960: 91-7.
30. Guo HC, Armstrong VW, Luc G et al - Characterization of five mouse monoclonal antibodies to apolipoprotein (a) from human Lp(a): Evidence for weak plasminogen reactivity. *J Lipid Res* 1989; 30: 23-37.
31. Murray SC, Buetow KH, Donovan M - Linkage disequilibrium of plasminogen polymorphism and assignment of the gene to human chromosome 6q26-27. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 338-50.
32. Miles LA, Fless GM, Levin EG, Scanu AM, Plow EF - A potential basis for the thrombotic risks associated with lipoprotein (a). *Nature* 1989; 339: 301-3.
33. Maranhão RC, Pileggi F - Lipoproteína (a): um potente fator de risco na aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 1990; 54: 337-42.
34. Fabian JA, Stewart L - Fibrinolytic Therapy. In: Eluson N, Jobes DR - Effective Homostasis in Cardiac Surgery. Philadelphia, WB Saunders Co 1988; 57-68.
35. Smith EB, Crosbiel L - Does lipoprotein (a) Lp(a) compete with plasminogen in human atherosclerotic lesions and thrombi? *Atherosclerosis* 1991; 89: 127-36.
36. Vinagre CGCM - Níveis plasmáticos de lipoproteína (a) em indivíduos normais e pacientes com doença arterial coronariana (dissertação de Mestrado). São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP 1992.
37. Harvie NR, Schultz JS - Studies of Lp-lipoprotein as a quantitative genetic trait. *Proc Natl Scand Sci. USA* 1970; 66: 99-103.
38. Sing CF, Schultz JS, Shreffler DC - The genetics of the Lp antigen II. A family study and proposed models of genetic control. *Ann Hum Genet* 1974; 38: 47-56.
39. Iselius L, Dahlen G, Faire U, Lindman T - Complex segregation analysis of the Lp(a) pre(B)-lipoprotein trait. *Clin Genet* 1981; 20: 147-151.
40. Hasstedt SJ, Wilson DE, Edwards CQ, Cannon WN, Carmelli D, Williams RR - The genetics of quantitative plasma Lp(a): analysis of a large pedigree. *J Med Genet* 1983; 16: 179-88.
41. Morton NE, Berg K, Sahlen G, Ferrel RE, Rhoads GG - Genetics of the Lp lipoprotein in Japanese. *Am Genet Epidemiol* 1985; 2: 113-21.
42. Hasstedt SJ, Williams RR - Three alleles for quantitative Lp(a). *Genet Epidemiol* 1986; 3: 53-5.
43. Utermann G, Kraft HG, Menzel HJ, Hopperweiser T, Seitz C - Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait I. Relation of Lp(a) glycoprotein phenotypes to Lp(a) lipoprotein concentration in plasma. *Hum Genet* 1988b; 78: 41-6.
44. Utermann G, Menzel HJ, Kraft HG, Duba HC, Kemmler HG, Seitz C - Lp(a) glycoprotein phenotypes. Inheritance and relation to Lp(a) - lipoprotein concentration in plasma. *J Clin Invest* 1987; 80: 458-65.
45. Albers J, Hazzard WR - Immunochemical quantification of human plasma Lp(a) lipoprotein. *Lipids* 1974; 9: 15-26.
46. Kraft HG, Dieplinger H, Hoyer E, Utermann G - Lp(a) phenotyping by immunoblotting with polyclonal and monoclonal antibodies. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 212-16.
47. Boerwinkle E, Menzel HJ, Kraft HG, Utermann G - Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait III. Contribution of Lp(a) glycoprotein phenotypes to normal lipid variation. *Hum Genet* 1989; 82: 73-8.
48. Utermann G, Hoppichler F, Dieplinger H, Seed M, Thompson G, Boerwinkle E - Defects in the low density lipoprotein receptor gene affect lipoprotein (a) levels: multiplicative interaction of two gene loci associated with premature atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1989; 86: 4171-4.
49. Rainwater DL, Manis GS, Vandeberg JL - Hereditary and dietary effects on apolipoprotein (a) isoforms and Lp(a) in baboons. *J Lip Res* 1989; 30: 549-58.
50. Gavish D, Azrolan N, Breslow JL - Plasma Lp(a) concentration is inversely correlated with the ratio of kringle IV/kringle V encoding domains in the apo(a) gene. *J Clin Invest* 1989; 84: 2021-7.
51. Boerwinkle E, Hixson JE - Genes and normal lipid variation. *Curr Opin Lipidol* 1990; 1: 151-9.
52. Krempler F, Kostner GM, Bolzano K et al - Lipoprotein (a) is not a metabolic product of other lipoproteins containing apolipoprotein B. *Biochim Biophys Acta* 1979; 575: 63-70.
53. Hoefler G, Harmoncourt F, Paschke et al - Lipoprotein (a): a risk factor for myocardial infarction. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 398-401.
54. Thiery J, Armstrong VW, Scheef J, Cventzfeld C, Creutzfeld W, Seidel D - Serum lipoprotein Lp(a) concentrations are not influenced by an HMG CoA reductase inhibitor. *Klin Wochenschr* 1988; 66: 462-3.
55. Maeda S, Abe A, Seishima M, Makino K, Noma A, Kawade M - Transient changes of serum lipoprotein (a) as an acute phase protein. *Atherosclerosis* 1989; 78: 145-50.
56. Yamashiro M, Seishima M, Kawade M - Alterations in serum Lp(a) lipoprotein concentrations in patients with hepatobiliary disorders. *Jap J Clin Chem* 1987; 16: 79.
57. Zechner R, Desoye G, Schweditsch MO, Pfeiffer KP, Kostner GM - Fluctuations of plasma lipoprotein -A concentrations during pregnancy and post partum. *Metabolism* 1986; 35: 333-6.
58. Dahlen GH - Lipoprotein (a) in relation to atherosclerotic disease. *Progr Clin Biol Res* 1988; 255: 27-36.
59. Armstrong VW, Cremer P, Eberce E et al - The association between serum Lp(a) and angiographically assessed coronary atherosclerosis. Dependence on serum LDL levels. *Atherosclerosis* 1986; 62: 249-57.
60. Guyton JR, Dahlen GH, Patsch W et al - Relationship of plasma lipoprotein Lp(a) levels to race and to apolipoprotein B. *Arteriosclerosis* 1985; 5: 265-72.
61. Mural A, Migahara T, Tuzimoto N, Matsuda M, Kamuyama M - Lp(a) lipoprotein as a risk factor for coronary heart disease cerebral infarction. *Atherosclerosis* 1986; 59: 199-204.
62. Lobo RA, Notelovitz M, Bernstein L, Khane FY, Ross RK, Paul WL - Lp(a) lipoprotein: relationship to cardiovascular disease risk factors, exercise, and estrogen. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1182-90.
63. Tomatis LA, Fierens EE, Verbrugge GP - Evaluation of surgical risk in peripheral vascular disease by coronary arteriography: a series of 100 cases. *Surgery* 1972; 71: 429-35.
64. Aronson D, Ruys T, Van Boekel H et al - A prospective study of risk factors in young adults with arterial occlusive disease. *Eur J Vasc Surg* 1989; 3: 227-32.
65. Vitale E, Zuliani G, Baroni L et al - Lipoprotein abnormalities in patients with extra-coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1990; 81: 95-102.
66. Tyrrel J, Cooke T, Reilly M et al - Lipoprotein Lp(a) and peripheral vascular disease. *J Int Med* 1992; 232: 349-52.
67. Groves P, Rees A, Bishop A et al - Apolipoprotein (a) concentrations and susceptibility to coronary artery disease in patients with peripheral vascular disease. *Br Heart J* 1993; 69: 26-30.
68. Rosengren A, Wilhelmsen L, Eriksson E, Risberg B, Wedel H - Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case control study in a general population sample of middle-aged men. *Br Med J* 1990; 301: 1248-51.
69. Hegele RA, Huang LS, Blum CB, Buring JE, Breslow JL - Apolipoprotein B-gene DNA polymorphisms associated with myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986; 24: 1509-15.
70. Visvikis S, Cambow JP, Arveiler D et al - Apolipoprotein B signal peptide polymorphism in patients with myocardial infarction and controls. The ECTIM study. *Hum Genet* 1993; 90: 561-5.
71. Brown MS, Goldstein JL - A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.
72. Ludwig EH, Blackhart BD, Pierotti et al - DNA sequence of the human apolipoprotein B gene. *DNA* 1987; 4: 363-72.
73. Boerwinkle E, Chan L - A three codon insertion, deletion polymorphism in the signal peptide region of the human apolipoprotein B (APO B) gene directly typed by the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 4003.
74. Hansen PS, Gerdes LU, Klausen IC, Gregersen N, Faergeman O - Polymorphisms in the apolipoprotein B-100 gene contributes to normal variation in plasma lipids in 464 Danish men born in 1948. *Hym Genet* 1993; 91: 45-50.
75. Gerdes LU, Klausen IC, Faergeman O - The effect of BMI and apo E phenotypes on lipid levels in 477 Danish men born in 1948. *Proceeding 55th Meeting European Atherosclerosis Society, Brugge* 1990; 37.
76. Cushing GL, Gaubatz JW, Burdick ML et al - Localization and quantification of apolipoprotein (a) and B in coronary artery bypass vein grafts resected at reoperation. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 593-603.
77. Seed M, Hoppichler F, Reaveley D et al - Relation of serum lipoprotein (a) concentration and apoprotein (a) phenotype to coronary heart diseases in patients with familial hipercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990; 322: 1494-99.
78. Novikoff AB, Holteman E - Células e Estrutura Celular. Trad Gilberto L. S. Rosa; Jorge M. Almeida; Luiz E. Nascimento; Wilson Savino. 2ª ed. Rio de Janeiro. Interamericana 1977; 326.
79. Futuyama DJ - Biologia Evolutiva. Trad Marcio de Viv e Fábio M. Sene. 2ª ed. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética/CNPq 1992; 646p.
80. Gardner EJ - Genética. Trad Paulo Armando Motta. Depto Genética do Inst Biologia da UFRJ, 5ª ed. Rio de Janeiro, Interamericana 1977; 502.