

HDL, LA LIPOPROTEÏNA ANTIATEROGÈNICA. FUNCIO DELS COMPONENTS PROTEICS PRINCIPALS*

F. González Sastre^a, J. Julve, J.C. Escolà i F. Blanco

Les modernes terapèutiques hipolipèmians basades en la inhibició de la síntesi de colesterol són efectives en el tractament preventiu de la malaltia coronària reduint la presentació d'episodis entre un 30 i un 40 %. No obstant això, en molts pacients la malaltia continua, malgrat que el colesterol LDL hagi disminuït. Una major reducció dels episodis coronaris requerirà actuar sobre altres factors de risc (lipoproteics o no lipoproteics) d'arteriosclerosi. Els estudis epidemiològics indiquen que l'alta concentració de colesterol plasmàtic transportat per les HDL és un factor protector contra l'arteriosclerosi, en contraposició al colesterol present en les LDL, que és un factor de risc. Per aquesta raó, es considera favorable per a la salut tenir una alta concentració de colesterol HDL en el plasma, igual que tenir una baixa concentració de colesterol LDL. Uns nivells de colesterol HDL baixos constitueixen també un factor de risc. La modificació dels nivells plasmàtics de l'HDL apareix com un objectiu terapèutic possible i és, per tant, de gran interès aprofundir o completar els actuals coneixements sobre la funció de l'HDL i els mecanismes moleculars pels quals un augment d'HDL proporciona protecció en front dels accidents cardiovasculars, tal com van indicar les primeres dades epidemiològiques.

En efecte, diversos estudis van demostrar la relació inversa o directa, respectivament de tenir una concentració alta de colesterol HDL o colesterol LDL amb el risc de patir alteracions vasculares arterioscleròtiques greus^{1,2}. A més, en els darrers anys, la capacitat antiaterogènica de HDL ha estat repetidament demostrada experimentalment^{3,9}. No obstant això, la relació entre HDL i arteriosclerosi és complexa i hi ha dades contradictòries a les experiències indicades. Per exemple, pacients amb alteracions genètiques poc freqüents que presenten deficiències molt marcades de HDL no semblen tenir un risc augmentat de malaltia cardiovascular¹⁰. Aquesta situació ha estat reproduïda experimentalment en el fet que els gens essencials per l'estructura i la funció de les HDL han estat suprimits. Una explicació provisional però plausible podria ser que en aquests estats cursen també amb una disminució del colesterol LDL¹⁰.

En qualsevol cas, l'augment o la disminució de colesterol HDL com a factor de risc negatiu o positiu sembla no ser resultat

d'una relació causal directa, sinó que podria ser secundària a alteracions en el metabolisme de les lipoproteïnes riques en triglicèrids³

Malgrat que alguns avenços s'han produït recentment en la comprensió del paper dels diferents components de les HDL, queden moltes incògnites sobre la seva funció fisiològica i, especialment, sobre els mecanismes moleculars que hi ha implicats en aquesta i en la seva relació amb l'arteriosclerosi.

La denominació HDL (*high density lipoprotein*) s'atribueix a un grup de lipoproteïnes molt heterogeni tant per la seva grandària com per la seva composició. La densitat varia entre 1,063 g/ml i 1,210 g/ml i se separen per ultracentrifugació de les lipoproteïnes de baixa densitat LDL (1,019-1,63 g/ml) i de les de molt baixa densitat VLDL (0,950-1,006 g/ml). S'empren diversos mètodes de fraccionament.

Els components proteics, les apolipoproteïnes, de les HDL semblen tenir un paper especialment important en la relació d'aquestes partícules amb l'arteriosclerosi¹¹.

S'han descrit diversos components proteics en les HDL: A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, E, i altres. Els components majoritaris i amb funcions estructurals són els dos primers.

L'apolipoproteïna A-I (apo A-I) és la proteïna més abundant de l'HDL, representa al voltant del 68 % de la proteïna present en aquestes partícules i es troba també en petita proporció en els quilomicrons. En situació de dejuni només es troba en HDL. És un polipeptid de pes molecular 28.000 i 243 aminoàcids. Es sintetitza en el fetge i en l'intestí com a preproapo A-I, producte d'un gen de la regió q23 del cromosoma 11 en la proximitat dels gens de l'apo C-III i A-IV i de la insulina. Les partícules esfèriques HDL2 i HDL3 contenen de 2 a 4 molècules d'apo A. La seva funció és estructural, té un paper essencial amb el transport revers del colesterol i és un cofactor de l'enzim lecitina colesterol-aciltransferasa (LCAT)¹².

Els ratolins en els quals s'ha incorporat el gen de l'apo A-I humana, expressen aquesta proteïna, reproduïxen l'heterogeneïtat de la HDL humana i en resposta a una dieta rica en greixos, incrementen el colesterol HDL i l'apo A-I plasmàtic, que és una característica dels humans i no dels rosegadors.

La hiperexpressió d'apo A-I, modifica la susceptibilitat a l'arteriosclerosi⁷. Els treballs de Badimón i Fuster del 1989 i 1990 són pioners en la demostració experimental d'un efecte protector o curatiu de les HDL. En aquests estudis es va tractar amb aquesta lipoproteïna conills que havien desenvolupat arteriosclerosi com a conseqüència d'una dieta rica en greixos^{5, 13}.

^aAcadèmic corresponent

*Discurs d'ingres com a Acadèmic corresponent a la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya

Però ja el 1991 s'estudià i es demostrà l'efecte inhibitori sobre l'arteriosclerosi de la modificació genètica de ratolins afegint en el seu genoma el gen de l'apo A-I(7). En aquest estudi, s'introdueix la malaltia amb dietes aterogèniques i es demostra la protecció efectuada pels alts nivells d'apo A-I humana. La hiperexpressió d'apo A-I i el conseqüent augment de l'HDL és capaç de prevenir l'arteriosclerosi accelerada posterior a l'angioplastia en rates per reducció de la proliferació de les cèl·lules musculars¹⁴.

Experiències especialment demostratives són aquelles sobre animals que s'han fet especialment susceptibles a l'arteriosclerosi per anul·lació del gen de l'apo E o també per introducció del gen d'apo A, per tant, en situacions d'arteriosclerosi produïdes per mecanismes diferents^{7,8,9,15,16}.

En conseqüència, la resposta és clara: l'increment d'apo A-I i el conseqüent increment de colesterol HDL té un efecte antiaterogènic en concordança amb els estudis epidemiològics en humans.

D'altra banda, també s'han obtingut ratolins en els quals s'ha inactivat el gen de l'apo A-I (AIKO). Aquests animals tenen un dèficit d'HDL, fet que indica la importància de l'apo A-I en la constitució d'aquestes lipoproteïnes. L'absència d'apo A-I produeix un dèficit funcional de LCAT que confirma el paper de A-I com a cofactor d'aquesta reacció enzimàtica. Els ratolins sense apo A-I no desenvolupen arteriosclerosi ni amb una dieta normal, ni amb una dieta rica en greixos¹⁷. Però quan aquests ratolins es creuen amb ratolins transgènics per apo B-100, els animals resultants són més susceptibles a l'arteriosclerosi que els progenitors. Els resultats de les investigacions de Hughes et al¹⁸ són especialment significatius pel que fa a la comparació entre la magnitud de les lesions arterioscleròtiques de ratolins control amb ratolins AIKO, ratolins transgènics per Apo B (Btg) i ratolins AIKOBtg. Els primers i els segons es diferencien tan sols en els nivells de colesterol HDL, colesterol total i triglicèrids, però sense conseqüències vasculars aparents. Els Btg mostren lesions considerables però els AIKOBtg mostren lesions marcadament superiors que els animals Btg. A més, quan s'intenta relacionar la grandària de les lesions amb els nivells de colesterol no HDL, s'observa que quan hi ha relació entre aquest dos paràmetres en els animals amb dèficit d'A-I (AIKO) les alteracions són sempre significativament superiors.

Estudis similars de Voyiaki et al¹⁹, sobre els nivells plasmàtics de lípids i lipoproteïnes mostren increments de TG en els grups d'animals A-I - / - (AIKO Btg) deguts a un catabolisme deficient (dèficit d'activitat lipasa). Les lesions arterioscleròtiques van ser un 200 % superiors en A-I - / - que en A-I + / + (Btg). Els dos treballs indicats ens permeten concloure que el dèficit de A-I, és a dir d'HDL no és una condició suficient per causar el desenvolupament d'arteriosclerosi, però modifica la susceptibilitat creada per altres factors augmentant-la remarcablement.

Cal destacar que en els animals amb dèficit d' A-I i HDL hi ha una deficiència en colesterol en els teixits esteroïdogenics i

això demostra també el paper d'aquestes lipoproteïnes com a transportadores de colesterol a aquests teixits.

Les accions de l'HDL que podrien explicar el seu efecte antiaterogènic són el seu paper essencial en el transport revers del colesterol (des dels teixits perifèrics al fetge) i el seu efecte protector que evita les modificacions oxidatives de les LDL.

L'apo A-II, la segona proteïna d'HDL, es sintetitza en el fetge, encara que en l'intestí es troben també petites quantitats de RNA missatger específic. El seu gen es troba en la regió q21-23 del cromosoma 1. La forma més abundant en el plasma és un homodímer, format per monòmers de 77 aminoàcids, units per un pont disulfur entre les cisteïnes de la posició 6. L'apo A-II té un alt percentatge d'hèlix (62 %) en la seva estructura i mostra una gran afinitat, superior a l'apo A-I, per les monocapes lipídiques. Per això, un increment d'apo A-II desplaça l'apo A-I de l'HDL. En l'HDL representa aproximadament el 20 % del contingut proteic. La seva concentració està regulada a través de variacions de la síntesi, a diferència del que passa amb l'apolipoproteïna A-I²⁰. La seva funció no és coneguda i diferents estudis suggereixen bé una acció moduladora de la lipasa hepàtica o de la proteïna transportadora d'esters de colesterol^{21,22}. També s'han descrit efectes contradictoris en relació amb l'eflux del colesterol de les cèl·lules.

L'únic exemple de mutació del gen de l'apo A-II, en humans, està descrit en una família japonesa. En dos membres d'aquesta família hi hagué una absència d'apo A-II, però no mostraren ni alteracions importants en la resta de lipoproteïnes ni signes d'arteriosclerosi. Això suggereix que el paper d'aquestes proteïnes pot ser substituït per altres apolipoproteïnes en humans. De fet, algunes espècies animals no tenen apo A-II detectables. Per contra, en ratolins en els quals s'ha anul·lat el gen, l'absència d'apo A-II ocasiona un dèficit marcat de HDL²³.

En ratolins s'ha aconseguit la hiperexpressió d'apo A-II per incorporació de còpies del gen humà o bé, també, del gen de ratolí. La hiperexpressió del gen humà causa l'aparició de partícules HDL més petites. Es produeix també una disminució de l'apo A-II de ratolí, però també de les apo A-I, amb el conseqüent dèficit funcional de LCAT²³. Això produeix una disminució d'HDL i l'acumulació de colesterol en la còrnia dels animals. A més, la hiperexpressió produeix un efecte aterogènic²⁵. L'expressió d'apo A-II neutralitza en part l'efecte protector de la hiperexpressió d'apo A-I en animals també transgènics per l'apo A-I¹¹.

En els animals transgènics d'apo A-II de ratolí, les HDL augmenten i augmenten també en grandària, però també presenten una susceptibilitat més gran a l'arteriosclerosi.

L'augment de la susceptibilitat a l'arteriosclerosi sembla dependre d'un augment de les lipoproteïnes que contenen apo B, induït per la dieta o per la modificació genètica i independent de la concentració d'HDL. Els animals transgènics d'Apo A-II humana presenten hipertriglicèridèmia, especialment quan són alimentats amb una dieta rica en greixos i colesterol (taula I). La hiperexpressió de l'apo A-II

TAULA I.
Perfil lipídic de plasma total i de lipoproteïnes plasmàtiques
aïllades de ratolins alimentats amb una dieta rica en greixos
i colesterol^{1a}

	Ratolins control	Ratolins transgènics 25.3	Ratolins transgènics 11.1
Plasma			
Triglicèrids	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,9 ± 0,12*
Colesterol total	5,17 ± 0,52	5,95 ± 0,55	8,16 ± 0,74*
% Colesterol lliure	21,8 ± 1,9	19,3 ± 1,2	29,0 ± 0,4*
Àcids grassos lliures	0,82 ± 0,05	0,95 ± 0,1	1,74 ± 0,08*
Apo A-II humana	0 ± 0	15,9 ± 2,0*	94,9 ± 21,0*
VLDL			
Triglicèrids	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,68 ± 0,05*
Colesterol total	2,74 ± 0,35	3,02 ± 0,38	4,94 ± 0,44*
IDL			
Triglicèrids	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,1 ± 0,01*
Colesterol total	0,57 ± 0,07	0,64 ± 0,11	1,10 ± 0,15*
LDL			
Triglicèrids	0,01 ± 0,002	0,005 ± 0,002	0,05 ± 0,01*
Colesterol total	0,43 ± 0,03	0,58 ± 0,03	1,10 ± 0,11*
HDL			
Triglicèrids	0,01 ± 0,005	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Colesterol total	1,14 ± 0,1	1,20 ± 0,02	0,66 ± 0,05*

^{1a}Es van determinar els nivells de colesterol total, triglicèrids, àcids grassos lliures i proteïnes en el plasma i en fraccions lipoproteïques de ratolins dejunats. Les dades representen 3 conjunts de plasmes per a cada línia (6-10 ratolins per conjunt). Els resultats s'expressen com a mitjana ± SEM.

Els triglicèrids, el colesterol total i els àcids grassos lliures s'expressen en mmol/l, mentre que l'apo A-II humana apareix en mg/dl. *Diferències significatives (P < 0,05) respecte dels ratolins transgènics 25.3 i/o controls HDL, lipoproteïnes d'alta densitat; IDL, lipoproteïnes de densitat intermèdia; LDL, lipoproteïnes de baixa densitat; VLDL, lipoproteïnes de molt baixa densitat.

humana en ratolins knockout d'apo E i en els ratolins transgènics que hiperexpressen PTEC (proteïna transferidora d'esters de colesterol) indueix l'aparició d'una hipertriglicèridèmia més severa. En tots aquests casos la hipertriglicèridèmia està associada també a un augment dels àcids grassos lliures²⁶⁻²⁷.

La hipertriglicèridèmia és deguda a un augment de la producció de VLDL en tots els casos (fig. 1). En els transgènics de PTEC també es produeix una disminució del catabolisme d'aquestes lipoproteïnes²⁶⁻²⁷.

En conclusió, s'ha establert que, si bé les partícules riques en apo A-I protegeixen contra l'arteriosclerosi, les HDL riques en apo A-II no solament no protegeixen sinó que l'accelereren. L'explicació d'aquest darrer fenomen podria raure en dos mecanismes diferents. Primer, l'alteració del colesterol revers associat amb la disminució de l'eflux de colesterol des de les cèl·lules i sobretot de l'alteració de la funcionalitat de LCAT. I, segon, una major tendència o major vulnerabilitat a l'oxidació de les pròpies HDL, o una menor protecció a l'oxidació de les HDL sobre les LDL. Una tercera opció, posada de manifest pels nostres treballs, és l'augment de la concentració de lipoproteïnes que contenen apo B, a causa, principalment, del fet la sobreproducció de triglicèrids en VLDL²⁶. Atès que la sobreproducció de VLDL és la característica bàsica de la hiperlipèmia familiar combinada i que el gen de l'apo A-II està situat en la proximitat del gen alterat, candidat responsable d'aquesta alteració, és probable que la seva funció sigui bloquejar l'expressió d'aquest gen. Altres

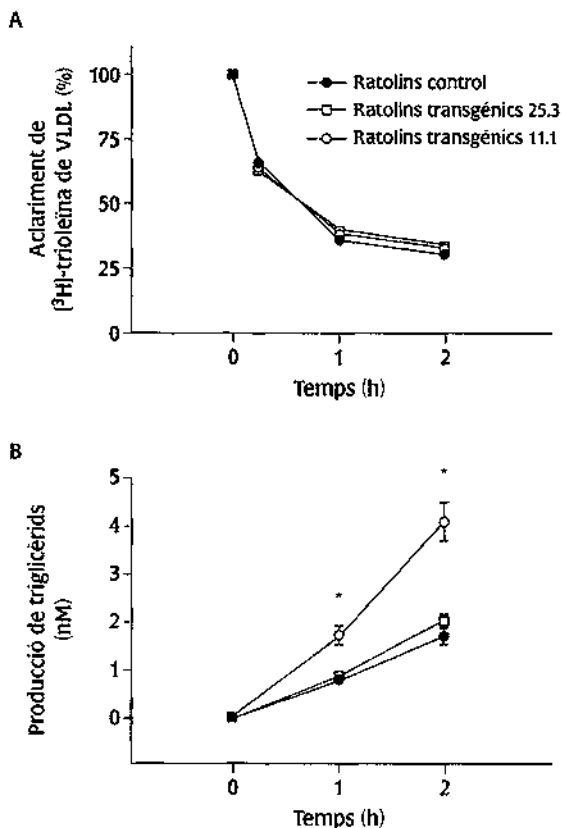


Fig. 1. Cinètica catabòlica in vivo de [3H]-trioleïna i taxa de producció de triglicèrids (A) La cinètica catabòlica es va determinar mitjançant la injecció intravenosa de trioelina tritiada de VLDL autòlogues en cadascuna de les línies de ratolins. La radiactivitat remanent en plasma (expressada com a la mitjana percentual ± SEM) es va determinar als temps indicats després de la injecció. Per cada grup, n = 8-9. (B) En un experiment complementari, es va avaluar la taxa de producció de triglicèrids. Els ratolins dejunats van ser sagnats immediatament abans de la injecció intravenosa de Triton WR-1339, i als 60 i 120 minuts després, per a poder representar el canvi resultant respecte del seu basal. Els triglicèrids van ser determinats als temps indicats. Cada punt representa la mitjana ± SEM de 7 a 9 ratolins. Ratolins controls (●), ratolins transgènics 25.3 (◻) i ratolins transgènics 11.1 (○). *Diferències significatives (P < 0,05) respecte de ratolins transgènics 25.3 o ratolins controls.

autors²⁸⁻²⁹ relacionen la localització gènica de l'apo A-II, i la concentració i el metabolisme d'àcids grassos i triglicèrids (taula II).

TAULA II.
Comparació de les característiques de la hiperlipèmia familiar combinada (HLFC) amb les que presenten els ratolins transgènics de la línia 11.1

Fenotip	HLFC ^a	Ratolins transgènics 11.1
Colesterol de VLDL augmentat	+	+
Colesterol d'LDL augmentat	+	+
Colesterol d'HDL reduït	+/-	+/-
Triglicèrids de VLDL augmentats	+	+
Triglicèrids d'LDL augmentats	+	+
Secreció de VLDL augmentada	+	+
ApoB augmentada	+	+
Catabolisme de VLDL normal	+/-	+
Fenotip dependent de la edat	+	ND
Factor de risc d'arteriosclerosi	+	+

^a Com han descrit Aouizerat et al (1999)
 + indica l'observació del fenotip descrit, - indica absència del fenotip descrit, +/- indica resultats contradictoris, ND, no determinat.

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Miller GJ, Miller NE. Plasma high-density-lipoprotein concentration and the development of ischaemic heart disease. *Lancet* 1975; 1: 16-19.
2. Manninen V, Elo MO, Frick L. Lipid alterations decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *JAMA* 1988; 260: 641-651.
3. Assmann G, von Eckardstein A, Funke H. High density lipoproteins, reserve transport of cholesterol and coronary artery disease. Insights from mutations. *Circulation* 1993; 87: III28-III34.
4. Williamson R, Lee D, Hagaman J, Maeda N. Marked reduction of high density lipoprotein cholesterol in mice genetically modified to lack apolipoprotein A-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7134-7138.
5. Badimon JJ, Badimon L, Fuster V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1990; 85:1234-1241.
6. Miyazaki A, Sakuma S, Morikawa W, Takiue T, Miake F, Terano T, et al. Intravenous injection of rabbit apolipoprotein A-I inhibits the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb Vac Biol* 1995; 15:1882-1888.
7. Rubin E, Krauss RM, Spangler EA, Verstuyft JG, Clift SM. Inhibition of early atherosclerosis in transgenic mice by human apolipoprotein A-I. *Nature* 1991; 353:265-267.
8. Liu AC, Lawn RM, Verstuyft JG, Rubin EM. Human apolipoprotein A-I prevents atherosclerosis associated with apolipoprotein(a) transgenic mice. *J Lipid Res* 1994; 35:2263-2267.
9. Plump AS, Scoot CJ, Breslow J. Human apolipoprotein A-I gene expression increases high density lipoprotein and suppresses atherosclerosis in the apolipoprotein-E deficient mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:9607-9611.
10. Breslow, JL. Familial disorders of high density lipoprotein metabolism. En: Scriver CR, et al, ed. *The metabolic basis of inherited disease*. New York, McGraw-Hill, 1989; 1251-1266.
11. Schultz JR, Verstuyft JG, Gong EL, Nichols AV, Rubin EM. Protein composition determines the antiatherogenic properties of HDL in transgenic mice. *Nature* 1993; 365:762-764.
12. Aron L, Jones S, Fielding CJ. Human plasma lecithin:cholesterol acyltransferase. Characterization of a cofactor-dependent phospholipase activity. *J Biol Chem* 1978; 253:7220-7226.
13. Badimon JJ, Badimon L, Galvez AM, Dische R, Fuster V. High density lipoprotein plasma fractions inhibit aortic fatty streaks in cholesterol fed rabbits. *Lab Invest* 1989; 60; 455-461.
14. De Geest Z, Zhao Z, Collen D, Holvoet P. Effects of adenovirus-mediated human apo A-I gene transfer on neointima formation after endothelial denudation in apo E-deficient mice. *Circulation* 1997; 96:4349-4356.
15. Pászty C, Maeda N, Verstuyft J, Rubin EM. Apolipoprotein A-I transgene corrects apolipoprotein E deficiency-induced atherosclerosis in mice. *J Clin Invest* 1994; 93:3301-3311.
16. Duverger N, Kruth H, Emmanuel F, Caillaud JM, Vigiuetta C, Castro G, et al. Inhibition of atherosclerosis development in cholesterol-fed human apolipoprotein A-I-transgenic rabbits. *Circulation* 1992; 94: 713-717.
17. Li H, Reddick RL, Maeda N. Lack of apoA-I is not associated with increased susceptibility to atherosclerosis in mice. *Arteriosclerosis* 1993; 13:1814-1821
18. Hughes SD, Verstuyft J, Rubin EM. HDL deficiency in genetically engineered mice requires elevated LDL to accelerated atherogenesis. 1997; 17:1725-1729.
19. Voyiatzakis E, Golberg IJ, Plump AS, Rubin EM, Breslow JL, Huang L. Apo A-I deficiency causes both hypertriglyceridemia and increased atherosclerosis in human apoB transgenic mice. *J Lipid Res* 1998; 39:313-321
20. Ikewaki K, Zech LA, Kindt M, Brewer HB, Rader DJ. Apolipoprotein A-II production rate is a major factor regulating the distribution of apolipoprotein A-I among HDL subclasses LpA-I and LpA-I:A-II in normolipidemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:306-312.
21. Mowri HO, Patsch JR, Gotto AM, Patsch W. Apolipoprotein A-II influences the substrate properties of human HDL2 and HDL3 for hepatic lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:755-762.
22. Lagrost L, Persegol L, Lallemant C, Gamberet P. Influence of apolipoprotein particles on cholesteryl ester transfer protein activity. Particles containing various proportions of apolipoprotein A-I and A-II. *J Biol Chem* 1994; 269: 3189-3197.
23. Weng W, Breslow JL. Dramatically decreased HDL cholesterol, increased remnant clearance and insulin hypersensitivity in apolipoprotein A-II knockout mice suggest a complex role for apolipoprotein A-II in atherosclerosis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93: 14788-14794.
24. Julve-Gil J, Ruiz-Pérez E, Casaroli-Marano RP, Marzal-Casacuberta A, Escolá-Gil JC, González-Sastre F, et al. Free cholesterol deposition in the cornea of human apolipoprotein A-II transgenic mice with functional lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. *Metabolism* 1999; 48:415-421.
25. Escolá-Gil JC, Marzal-Casacuberta A, Julve-Gil J, Ishida BY, Ordóñez-Llanos J, Chan L, et al. Human apolipoprotein A-II is pro-atherogenic molecule when it is expressed at a level similar to that in humans: evidence of a potentially relevant species-specific interaction with diet. *J Lipid Res* 1998; 39: 457-462.
26. Escolá-Gil JC, Julve J, Marzal-Casacuberta A, Ordóñez-Llanos J, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. Expression of human apolipoprotein A-II in apolipoprotein E-deficient mice induces features of familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2000; 41: 1328-1338.
27. Escolá-Gil JC, Julve J, Marzal-Casacuberta A, Ordóñez-Llanos J, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. Apo A-II expression in CETP transgenic mice increases VLDL synthesis and impairs VLDL clearance. *J Lipid Res (en premsa)*
28. Wardle GH, Daluiski A, Bu X, Purcell-Huymh DA, De Meester C, Puppione DL, et al. Evidence of a linkage of the apolipoprotein A-II locus to plasma apolipoprotein A-II and free acid levels in mice and humans. *Proc Nat Acad Sci USA* 1993; 90: 10886-10890.
29. Wohl MC, Lamarche B, Nergerson J, Moorjani S, Prud'homme D, Nadeau A, et al. The Msp I polymorphism of the lipoprotein A-II gene as a modulator of the dyslipemic state found in visceral obesity. *Atherosclerosis* 1997; 128: 183-190.