

# Lipoproteínas transportadoras de triglicéridos (II)

D. Gómez-Coronado, M. A. Lasunción y E. Herrera

Servicio de Bioquímica-Investigación. Hospital Ramón y Cajal y Universidad de Alcalá de Henares, Madrid.

## Metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos

### Síntesis y secreción

Sendos esquemas sobre el metabolismo de los quilomicrones y de las VLDL se representan en las figuras 6 y 7, respectivamente. En el caso de los quilomicrones, los ácidos grasos que forman parte de los triglicéridos proceden fundamentalmente de la dieta, mientras que en el caso de las VLDL derivan de la lipogénesis hepática, de la lipólisis del tejido adiposo y también de los ácidos grasos que entran en el hígado mediante la captación de partículas remanentes. A pesar del distinto origen de los

triglicéridos, principal componente de quilomicrones y VLDL, la biosíntesis, el ensamblaje y la secreción de dichas lipoproteínas por el enterocito y el hepatocito, respectivamente, comparten muchos hechos en común. La Apo-B (48 o 100, respectivamente) se ensambla con los lípidos a nivel del retículo endoplasmático y la partícula se remodela en el aparato de Golgi al tiempo que se glucosilan las apolipoproteínas<sup>96,98</sup>. De ahí se desprenden vesículas de secreción que contienen las partículas lipoproteicas que migran hacia la membrana plasmática, con la cual se fusionan, liberando así su contenido al espacio de Disse en el hígado (VLDL)<sup>96</sup> o a los canalículos linfáticos (quilomicrones)<sup>97</sup>. Las partí-

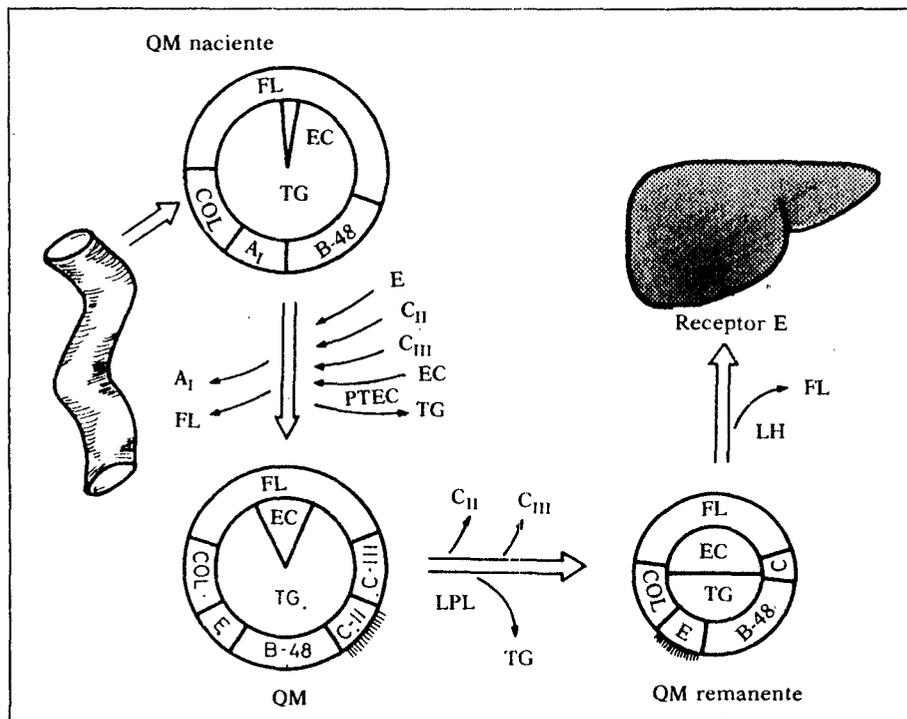


Figura 6. Esquema del metabolismo de los quilomicrones en el plasma. TG = triglicéridos; FL = fosfolípidos; COL = colesterol libre; EC = colesterol esterificado; las apolipoproteínas vienen indicadas sin el prefijo "Apo": A<sub>1</sub>, B-48, C total, C<sub>II</sub>, C<sub>III</sub> y E; LPL = lipoproteína lipasa; LH = lipasa hepática; PTEC = proteína transferidora de ésteres de colesterol. La borla de trazos sobre las apolipoproteínas indica el estadio de la partícula lipoproteica en el que la función de la apolipoproteína es más relevante.

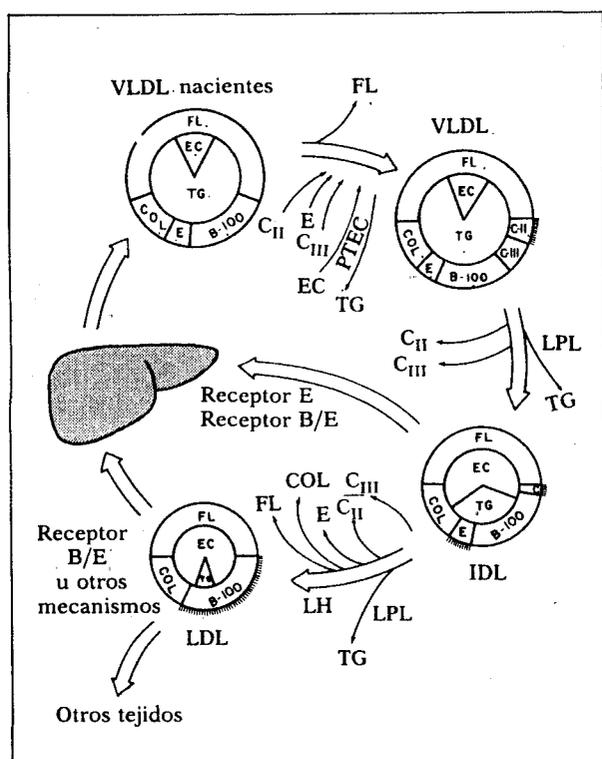


Figura 7. Esquema del metabolismo de las VLDL en el plasma. (Para abreviaturas véase el pie de la figura 6.)

culas recién segregadas o "nacientes" son generalmente más ricas en triglicéridos y más pobres en colesterol y proteínas, presentando además una composición apoproteica marcadamente diferente de las partículas que se aíslan del plasma o de la linfa. Así, las VLDL nacientes contienen las Apo-B (B-100 en el caso de humano y B-100, B-95 y B-48 en la rata) y E y escasa o ninguna Apo C<sup>96</sup> (fig. 7), mientras que los quilomicrones nacientes contienen predominantemente las Apo-B-48, A<sub>I</sub> y A<sub>IV</sub><sup>97</sup> (fig. 6).

Los quilomicrones segregados por el intestino son de diverso tamaño y composición<sup>97</sup>. Estas lipoproteínas pueden clasificarse dentro de 2 amplios grupos: el primero lo componen partículas de gran tamaño y poco densas (Sf > 400) y el segundo corresponde a partículas de menor tamaño y más densas (Sf 20-400), también conocidas como VLDL intestinales. El predominio de uno u otro tipo de partículas depende del flujo de triglicéridos a través del enterocito. En los momentos de activa absorción de lípidos se producen quilomicrones de mayor tamaño, mientras que cuando aquélla es menor en la linfa predominan los quilomicrones pequeños o VLDL intestinales. La secreción de mayores cantidades de triglicéridos en los quilomicro-

nes no implica un aumento concomitante en la cantidad de apolipoproteínas por partícula, por lo que no sólo varía el tamaño de ésta sino también su composición<sup>97</sup>.

Las VLDL producidas por el hígado también son polidispersas y heterogéneas respecto a su tamaño, densidad y composición. Las primeras evidencias de esta peculiaridad procedieron de estudios cinéticos *in vivo*. Así, en humanos parecen entrar en la circulación distintas poblaciones de partículas en lo que a tamaño y densidad se refiere<sup>99</sup>. Experimentos similares en la rata sugieren que el hígado de este animal segrega dos tipos de partículas VLDL atendiendo a su contenido en Apo-B, unas con Apo-B-48 y otras con las formas de mayor peso molecular, es decir B-100 y B-95, y prácticamente ninguna partícula que contenga aquélla y estas formas conjuntamente<sup>2</sup>. Los estudios de Windmueller y Spaeth<sup>100</sup> no sólo confirman este resultado sino que además sugieren que la Apo-B-100 y Apo-B-95 pueden localizarse en partículas distintas. Por otro lado, estos mismos autores obtuvieron evidencia directa de que el hígado perfundido de rata segrega VLDL de un amplio margen de tamaños (Sf 20-1100) y con diferente contenido relativo de triglicéridos y colesterol. Sin embargo, la relación entre la cantidad de Apo-B-48 y las formas mayores de Apo-B fue similar a lo largo del espectro de tamaños de las partículas a excepción de las más pequeñas (Sf 20-100), las cuales presentaron un enriquecimiento en Apo-B-100 respecto al resto de las VLDL. Ello implica que tanto las partículas con Apo-B-48 como las partículas con las formas mayores de la Apo-B son poblaciones heterogéneas atendiendo a su tamaño y densidad<sup>100</sup>.

Las características físicas y la composición de las VLDL recién segregadas varían en función de la tasa de producción de triglicéridos por el propio hígado, la cual a su vez depende de la situación nutricional y metabólica del animal. Así, el hígado de rata en ayunas, junto con una menor secreción de triglicéridos que en situación de alimentación, segrega VLDL de menor tamaño por término medio<sup>100,101,103</sup> y con menores contenidos en las Apo-E y B-48<sup>100,101</sup> respecto al total de Apo-B. Por el contrario, a elevadas tasas de secreción de triglicéridos, como es el caso de la realimentación, las VLDL recién segregadas son de mayor tamaño y con mayor proporción de Apo-B-48 que durante la situación de alimentación<sup>100</sup>. Al igual que sucede en el intestino, el estímulo de la secreción de triglicéridos por el hígado no se asocia invariablemente a un estímulo similar de la secreción de Apo-B. Este es el caso, por ejemplo, de ciertas hipertrigliceride-

mias humanas<sup>104</sup> o de la adición de oleato a cultivos de células HepG<sub>2</sub><sup>105</sup>. De esta manera puede transportarse una mayor cantidad de triglicéridos mediante partículas de mayores dimensiones y enriquecidas en dichos lípidos. Todos éstos hechos plantean la interesante cuestión de la posible "canalización" del metabolismo de las partículas VLDL desde el origen de las mismas.

### Lipólisis

La visión que actualmente se tiene del metabolismo plasmático de las lipoproteínas ricas en triglicéridos ha surgido de la conjunción de las observaciones realizadas tanto en estudios *in vivo*, basados principalmente en la cinética plasmática de la Apo-B, como en estudios *in vitro*. Mientras que los primeros han permitido establecer la secuencia catabólica de la partícula lipoproteica y, con ello, las relaciones precursor-producto, los estudios *in vitro* han aportado información acerca de los procesos específicos que forman parte de dicha secuencia. Los sucesos que se producen durante la lipólisis de los quilomicrones y de las VLDL son semejantes entre sí, por lo que, con el fin de simplificar la exposición, nos referimos primordialmente a las VLDL (fig. 7), haciendo mención de los quilomicrones cuando se estime oportuno (fig. 6).

Para que la LPL pueda hidrolizar sus triglicéridos, las partículas lipoproteicas nacientes deben adquirir la Apo-C<sub>II</sub> necesaria para activar la LPL. Esta apolipoproteína la reciben de las HDL, desde donde también se les transfieren Apo-C<sub>III</sub>, Apo-E y, en el caso de humanos, ésteres de colesterol, esto último mediado por una proteína específica conocida como proteína transportadora de ésteres de colesterol (PTEC). Esta serie de transferencias es simultánea con la pérdida de fosfolípidos de las VLDL<sup>102</sup>. En el caso de los quilomicrones también se pierden Apo-A<sub>I</sub> y Apo-A<sub>IV</sub>, las cuales se transfieren a las HDL<sup>96</sup>. Todos estos cambios comienzan a producirse tan pronto como las VLDL y los quilomicrones entran en contacto con el plasma y la linfa, respectivamente. Los recientes estudios de Ishikawa et al<sup>106</sup> sugieren que al menos parte de las VLDL segregadas por el hígado humano carecen totalmente de Apo-E. Para la adquisición de Apo-E por estas partículas se requiere una modificación específica en la expresión de la Apo-B de su superficie, modificación que es inducida por la acción previa de las lipasas sobre dichas VLDL<sup>106</sup>. A este respecto conviene recordar la presencia de lipasas en el propio hígado e intestino, es decir, la presencia de LH en las células endoteliales sinusoidales y la capacidad de síntesis de LPL por parte de los

macrófagos, hechos que convierten a dichos órganos en lugares potenciales de hidrólisis de triglicéridos y fosfolípidos en las partículas recién segregadas<sup>107</sup>. Tras esta serie de transformaciones, la partícula naciente queda, por un lado, en disposición de interaccionar con la LPL y, por otro, con una dotación completa de Apo-E, la cual le permitirá la interacción con los receptores celulares; sin embargo, su contenido en Apo-C, y especialmente Apo-C<sub>III</sub> prevendrá un temprano aclaramiento de la partícula<sup>31</sup>. Por otro lado, ya se ha comentado que la Apo-C<sub>III</sub> también puede tener un papel regulador de la acción de la LPL sobre la lipoproteína, oponiéndose a una rápida hidrólisis de ésta.

Una vez en el torrente circulatorio, la hidrólisis de los triglicéridos es un hecho prominente. En humanos la vida media de estos lípidos es de 5-15 minutos en el caso de los quilomicrones y varía entre 30 minutos y 4 horas en el caso de las VLDL<sup>107</sup>. La visión actual del proceso lipolítico de las lipoproteínas ricas en triglicéridos supone una serie de interacciones consecutivas de la partícula lipoproteica con varias moléculas de LPL en distintos sitios de la superficie endotelial. Tras cada una de estas interacciones se produce una partícula deplecionada en algunos de sus triglicéridos (partícula remanente), con lo que ésta va reduciéndose en tamaño y aumentando en densidad progresivamente. Conforme aumenta el grado de lipólisis de las VLDL, las partículas remanentes se convierten en IDL y éstas, mediante la continuación de la deslipidación, en LDL, en un proceso conocido globalmente como cascada VLDL-IDL-LDL. Para comprender los mecanismos sobre los que se asienta este fenómeno es de crucial importancia el descubrimiento debido a Eisenberg et al de que una partícula VLDL da lugar a una sola partícula IDL y ésta a una sola partícula LDL, de tal suerte que toda la Apo-B presente en la partícula precursora se mantiene en los sucesivos productos<sup>15</sup>. Este fenómeno también es aplicable al caso de los quilomicrones, pero con la salvedad de que los productos de su catabolismo no llegan a superar la densidad de 1,006 g/ml<sup>108</sup>.

La depleción en triglicéridos de las VLDL supone un enriquecimiento relativo de la partícula en proteínas, fosfolípidos y colesterol esterificado y libre. Sin embargo, las IDL, a pesar de conservar muy pocos (1-5 %) de los triglicéridos que se encontraban originariamente en las VLDL, siguen teniendo a este lípido como componente mayoritario. Esta aparente discrepancia se debe a la pérdida de otros componentes. Así, simultáneamente a la hidrólisis de los triglicéridos del núcleo se transfiere material

superficial, como son Apo-C y E (también Apo-A en el caso de los quilomicrones), fosfolípidos y colesterol libre a las HDL. Se ha estimado que cuando dicha partícula deviene finalmente en una LDL ( $2,2 \times 10^6$  daltons) ha perdido toda la Apo-C y Apo-E, un 98 % de los triglicéridos, un 80 % de los fosfolípidos y un 90 % de colesterol libre presentes en la VLDL ( $16 \times 10^6$  daltons, Sf 60-100)<sup>107</sup>. Además, una partícula LDL también contiene menos moléculas de colesterol esterificado que una partícula VLDL media<sup>109</sup>, a pesar de que dicho lípido es el componente más abundante en las LDL. De esta manera, gracias al mantenimiento de una adecuada relación entre los componentes del núcleo y de la superficie, la partícula conserva la estructura esférica a lo largo de toda la cascada. Un aspecto que interesa resaltar aquí es que el proceso lipolítico de las VLDL constituye una fuente de componentes para las HDL y más concretamente para la formación de HDL<sub>2</sub> a partir de HDL<sub>3</sub><sup>110</sup>. Los componentes que se desprenden de las VLDL se incorporan a las HDL<sub>3</sub>, las cuales, con la participación adicional de la LCAT, se transforman en HDL<sub>2</sub><sup>34</sup>. Por otra parte, las HDL ceden o reciben Apo-C y Apo-E de las lipoproteínas ricas en triglicéridos en función de los requerimientos metabólicos de éstas, actuando así de reservorios plasmáticos de las mencionadas apolipoproteínas.

Parte de los fosfolípidos, y especialmente la fosfatidilcolina, son hidrolizados en la propia partícula VLDL por la LPL (y LH), dando ello cuenta de la disminución en la relación fosfatidilcolina/esfingomielina que acontece con la transformación de las VLDL en LDL<sup>107</sup>. Posiblemente, aunque ello no se ha podido establecer, la hidrólisis de los fosfolípidos superficiales constituya un requisito para que la LPL pueda acceder acto seguido a los triglicéridos del núcleo.

Los cambios que se operan en la superficie de las VLDL tienen importantes consecuencias en el posterior procesamiento de estas partículas. La pérdida de Apo-C<sub>II</sub> presumiblemente convierte a la partícula en peor sustrato para la LPL, determinando tal vez una mayor participación de la LH en la lipólisis. De hecho, y como hemos comentado anteriormente, esta enzima parece estar implicada en el catabolismo de las VLDL de pequeño tamaño y de las IDL, mediando en la transformación de éstas en LDL. Una interesante cuestión es la que hace referencia a la interrelación existente entre la Apo-C<sub>II</sub> y la Apo-C<sub>III</sub> en la modulación del metabolismo de las VLDL y, más concretamente, qué consecuencias puede acarrear una distinta velocidad de desaparición de una apolipoproteína respecto a otra de la

superficie de la partícula. La escasa información que actualmente se posee acerca de una pérdida diferencial de ambas apolipoproteínas con el proceso de hidrólisis de los triglicéridos (y los fosfolípidos) es contradictoria<sup>111,112</sup>. Finalmente, no puede descartarse que ciertos cambios en las propiedades físicas de la partícula, como son la fluidez, la tensión superficial, etcétera, repercutan en su interacción con las lipasas. Por lo que se refiere a la Apo-E, ésta parece transferirse a las HDL a un ritmo más lento que la Apo-C<sup>15</sup>. Ello posibilitará la interacción de las partículas remanentes y de las IDL con los receptores celulares mediante la Apo-E y también mediante la Apo-B-100. La Apo-E residual abandona la partícula previamente a la conversión de ésta en una LDL, cuya única apolipoproteína es la Apo-B-100.

No todas las partículas de VLDL dan lugar a partículas de LDL. Se ha descrito que en humanos entre un 40 y un 90 % de la Apo-B de las VLDL aparece en la fracción de las LDL y el resto es aclarada de la circulación en la fase de remanentes o IDL<sup>96</sup>. Ello sugiere la existencia de una heterogeneidad metabólica en el seno de las VLDL. Packard et al<sup>113</sup> han demostrado mediante estudios cinéticos que las VLDL que contribuyen mayoritariamente a la formación de LDL son VLDL que se segregan a la circulación como partículas de pequeño tamaño (Sf 20-60), mientras que las partículas de mayor tamaño (Sf 100-400) son degradadas a partículas más pequeñas (Sf 12-100) que se aclaran seguidamente de la circulación, transformándose en escasa proporción en LDL. Un factor causante de este fenómeno puede ser el contenido en Apo-E. Así, las partículas de mayor tamaño contienen por término medio mayor número de moléculas de Apo-E, lo cual podría favorecer su temprano aclaramiento de la circulación<sup>114</sup>.

La rata se caracteriza por la rápida tasa catabólica de sus VLDL. Así, la vida media de la Apo-B en estas lipoproteínas es de 5-10 min, en contraste con las 2-4 h en humanos<sup>15</sup>. En la rata la proporción de Apo-B de las VLDL que aparece en las LDL es tan sólo un 5 %<sup>115</sup>. En esta especie parece existir una clara segregación metabólica entre las VLDL que contienen Apo-B-48 y aquellas que contienen Apo-B-95 o Apo-B-100. Las primeras se aclaran más rápidamente de la circulación sin dar lugar a LDL, de tal manera que estas lipoproteínas sólo contienen las formas de Apo-B de alto peso molecular<sup>2,100,116</sup>. Ello explica, al menos en parte, la baja concentración de LDL que posee esta especie. El comportamiento de las VLDL con Apo-B-48 en la rata recuerda el comportamiento propio de los qui-

lomicrones, lipoproteínas que al igual que aquéllas contienen Apo-B-48. En estas circunstancias resulta tentador pensar que dicha apolipoproteína determina directa o indirectamente el rápido catabolismo de las partículas que la poseen.

Volviendo a la especie humana, podemos asegurar que en los individuos normales todas las LDL derivan del catabolismo de las VLDL. Sin embargo, estudios cinéticos llevados a cabo en ciertas situaciones patológicas como son la hipercolesterolemia familiar (HF) homocigótica y la hiperlipoproteinemia tipo III, han llevado a la conclusión de que parte de las LDL de estos pacientes poseen un origen independiente de las VLDL<sup>117</sup>.

#### *Intercambio de componentes*

Durante el metabolismo intravascular de las lipoproteínas existe un dinámico intercambio de componentes entre las distintas partículas e incluso entre las partículas y las células en el caso de los lípidos. Dicho fenómeno puede o no resultar en la transferencia neta de moléculas<sup>118</sup>, pero aquí nos ocuparemos fundamentalmente del primer caso por ser más relevante en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Ya hemos comentado en el apartado anterior que la hidrólisis de los triglicéridos de las VLDL y los quilomicrones por la LPL así como la concomitante reducción en el volumen de su núcleo determina la transferencia de apolipoproteínas, fosfolípidos y colesterol libre a las HDL. En ausencia de HDL se ha observado la formación de vesículas bilamelares discoidales compuestas de proteínas, fosfolípidos y colesterol libre<sup>80</sup>, que son similares a las encontradas en el plasma de individuos con deficiencia de LCAT o a las HDL nacientes segregadas por el hígado y el intestino<sup>15</sup>. Resta por determinar si este tipo de estructuras se forman con la lipólisis de las VLDL y los quilomicrones *in vivo* y, en su caso, si estas vesículas constituyen el origen de nuevas partículas HDL o bien se fusionan con partículas HDL preexistentes.

La transferencia de apolipoproteínas entre las distintas partículas no parece estar mediada por ninguna proteína específica<sup>96</sup>. Ahora bien, el plasma humano contiene cierto número de proteínas transferidoras de lípidos (LTP) que median en la transferencia neta y el intercambio de fosfolípidos, colesterol esterificado y triglicéridos entre las lipoproteínas. Han sido identificadas dos de estas proteínas. La primera facilita la transferencia de fosfolípidos, por lo que se conoce como proteína transferidora de fosfolípidos (PTP o LTP<sub>I</sub>). Esta proteína probablemente esté implicada en la transferencia

de fosfolípidos desde las VLDL y los quilomicrones a las HDL durante la lipólisis de aquéllas<sup>118</sup>. La segunda proteína, cuyo papel en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos es más conocido, es la denominada proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) o de lípidos neutros (LTP<sub>II</sub>). El plasma de rata carece o posee bajos niveles de PTEC<sup>118</sup>, lo cual parece deberse no tanto a la falta de proteína como a la presencia de un inhibidor que circula asociado a ciertas subpoblaciones de HDL<sup>119</sup>. La PTEC posee la facultad de intercambiar cantidades equimolares de colesterol esterificado y triglicéridos en direcciones opuestas, determinadas por las concentraciones relativas de dichos lípidos en las partículas donante y aceptora<sup>118</sup>. Así, la CETP transfiere colesterol esterificado desde las HDL a las VLDL y quilomicrones, mientras que transfiere triglicéridos en la dirección opuesta. Las VLDL de mayor tamaño (49 nm de diámetro) y más ricas en triglicéridos, como pueden ser las partículas nacientes, son aceptores preferenciales del colesterol esterificado de las HDL. Por el contrario, la transferencia neta de colesterol esterificado desde las HDL a las VLDL más pequeñas (31 nm de diámetro) y las LDL es escasa, produciéndose entre ellas predominantemente un fenómeno de intercambio<sup>120</sup>.

La actividad de la LCAT incrementa la relación colesterol esterificado/triglicéridos en las HDL, con lo cual estimula la transferencia de ésteres de colesterol mediante la CETP a las VLDL<sup>118</sup>. Alrededor de dos tercios del colesterol esterificado sintetizado en las HDL es transferido a las VLDL y, con ellas, a las LDL<sup>121</sup>, constituyendo ésta la principal fuente de colesterol esterificado para las VLDL y las partículas derivadas de su metabolismo. Aparte del colesterol libre procedente de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la LCAT utiliza como sustrato colesterol libre extraído de los tejidos<sup>96</sup>. Con la transferencia del colesterol esterificado a la cascada VLDL-IDL-LDL y la captación final de estas partículas por el hígado, se cierra una vía adicional, aparte de la de las HDL<sub>2</sub>, de transporte del colesterol desde los tejidos periféricos al hígado<sup>118</sup>.

Se ha sugerido que la actividad de la CETP está integrada, así mismo, en un proceso de transformación de LDL y HDL en partículas de distinta composición y menor tamaño<sup>107, 118</sup>. Así, la acción de la CETP resulta en un incremento de la concentración de triglicéridos en LDL y HDL a expensas del colesterol esterificado. En estas condiciones, la LPL y la LH hidrolizan los triglicéridos del núcleo dando lugar a partículas de tamaño más reducido. En el caso de las HDL, este proceso, junto con la

pérdida de ciertos componentes superficiales, puede ser el responsable de la transformación de las HDL<sub>2</sub> en HDL<sub>3</sub>. Por su parte, en el caso de las LDL, el intercambio de colesterol esterificado por triglicéridos con las VLDL explica que éstas contengan mayor cantidad de moléculas de colesterol esterificado por partícula que las LDL<sup>109,118</sup>. Todos estos hechos tomados en conjunto permiten comprender ciertos fenómenos observados en situación de hipertrigliceridemia, como son la presencia de LDL y HDL enriquecidas en triglicéridos y también, en algunas ocasiones, de LDL y HDL inusualmente pequeñas<sup>107,118</sup>.

Trasladándonos a la situación en la rata, donde la actividad PTEC es muy baja, podemos seguir la misma línea de razonamientos. Así, el plasma de este animal contiene una predominancia de HDL de mayor tamaño y menor densidad, como son las HDL<sub>1</sub> y las HDL<sub>2</sub><sup>122</sup>. Por otro lado, las VLDL son pobres en ésteres de colesterol mientras que las LDL están relativamente enriquecidas en triglicéridos<sup>21</sup>. Por último, y a diferencia de lo que ocurre en humanos, la composición en ácidos grasos de los ésteres de colesterol en las VLDL y LDL de la rata es netamente diferente a la propia de las HDL<sup>22</sup>.

#### *Captación mediante los receptores celulares*

El hígado constituye el principal órgano de captación y degradación de los remanentes de quilomicrones y VLDL y de las IDL<sup>115</sup>. Si bien los hepatocitos tienen una participación mayoritaria en este cometido<sup>123</sup>, las células no parenquimatosas, como son las células endoteliales y de Kupffer, representan una contribución significativa en virtud de su mayor densidad de receptores<sup>124</sup>. La presencia de Apo-E o Apo-B-100 en aquellas partículas lipoproteicas las faculta para su captación mediante los receptores celulares, pero no es suficiente por sí sola. Los cambios en la composición y el tamaño de la partícula que se producen durante el metabolismo plasmático de ésta permiten a dichas apolipoproteínas adquirir la conformación y el grado de exposición adecuados para su interacción con los receptores. Existen evidencias de que la inmunoreactividad de la Apo-B-100 se incrementa con la reducción en el tamaño de las VLDL y en éstas es menor que en las LDL<sup>20</sup>. Así mismo la lipólisis *in vitro* de VLDL de gran tamaño (Sf 120-400) induce la expresión de ciertos epítomos de la Apo-B-100, permitiendo su interacción con el receptor B,E<sup>16,20</sup>. En el caso de la Apo-E, la variabilidad en la expresión de distintos epítomos en las VLDL se ha puesto de manifiesto incluso dentro de rangos de tamaños de partículas relativamente estrechos (Sf 120-

400)<sup>125</sup>. De manera consistente con estos fenómenos, en los individuos normolipémicos la capacidad de interacción y captación mediante el receptor B,E de fibroblastos únicamente se manifiesta en las VLDL de menor tamaño (Sf 20-60), las IDL y las LDL<sup>126,127</sup>, mientras que las VLDL mayores (Sf 60-400) requieren una hidrólisis previa a cargo de la LPL<sup>128</sup>.

Estos cambios en la expresión de las apolipoproteínas que actúan como ligandos para los receptores están directamente relacionados con la pérdida de otros constituyentes de la superficie de la partícula. Así, la depleción en Apo-C acelera la captación hepática de los remanentes de quilomicrones y VLDL, dado que las distintas apolipoproteínas C poseen la capacidad de inhibir dicho proceso<sup>30,31</sup>. En las VLDL, la expresión de dos epítomos concretos de la Apo-E, que se localizan en las inmediaciones del sitio de unión a los receptores, se correlaciona directamente con la relación Apo-E/Apo-C en dichas lipoproteínas<sup>125</sup>. Los trabajos de Borensztajn et al<sup>95,129</sup> indican que la hidrólisis de los fosfolípidos de los quilomicrones por la LH es el principal determinante de que estas partículas sean reconocidas por los receptores hepáticos aunque no se altere apreciablemente el contenido de Apo-C o del resto de apolipoproteínas.

En el caso de las VLDL, las cuales contienen Apo-E y Apo-B-100, se plantea la cuestión del papel relativo de ambos ligandos para mediar en la captación de aquellas partículas. El número total de ligandos por partícula parece ser un factor a tener en cuenta. En términos generales, dicho número decrece progresivamente desde las VLDL de mayor tamaño, las cuales contienen más moléculas de Apo-E y una de Apo-B-100 hasta las LDL, con tan sólo una molécula de Apo-B-100<sup>11,114</sup>. Así, las VLDL más grandes dan lugar a remanentes que se aclaran rápidamente de la circulación sin apenas transformarse en LDL, mientras que las VLDL inicialmente más pequeñas se aclaran a menor velocidad y constituyen los precursores mayoritarios de las LDL, las cuales, por su parte, permanecen en la circulación por períodos más prolongados<sup>114,130</sup>. Esto se manifiesta también en el caso de las VLDL de individuos hipertriglicéridémicos (VLDL-HTG), que contienen un mayor número de moléculas de Apo-E que las VLDL de individuos normolipémicos<sup>14,114</sup>, lo que les permite interactuar con los receptores y ser aclaradas directamente de la circulación en mayor proporción que las VLDL normales<sup>104</sup>.

Los estudios de Bradley et al<sup>14</sup> han permitido diferenciar dos poblaciones de moléculas de Apo-E

en las VLDL-HTG de Sf 60-400. Una de estas poblaciones es resistente a la hidrólisis por la trombina y es inaccesible a los receptores B,E, por lo que parece estar "enmascarada". Esta población también se encuentra en las VLDL normales en el mismo rango de tamaños. La segunda población, la cual no se observa en las VLDL normales, está expuesta a la hidrólisis por la trombina y es la que posibilita la interacción de las VLDL-HTG de Sf 60-400 con el receptor B,E<sup>14</sup>. En este rango de tamaños la Apo-B-100 no presenta la conformación adecuada para ser reconocida por los receptores B,E, lo cual es válido tanto para las VLDL-HTG como para las VLDL normales. Por lo tanto, la Apo-E es el principal si no el único ligando responsable de la interacción de las VLDL-HTG de Sf 60-400 con el receptor B,E<sup>14,20</sup>. Gracias a la cromatografía de inmovilización recientemente se ha podido precisar que no todas las VLDL-HTG pertenecientes a una misma subfracción de acuerdo con su tamaño o tasa de flotación (Sf) contienen una Apo-E suficientemente "expuesta" como para permitir su reconocimiento por el receptor B,E<sup>25</sup>. De cualquier manera, vemos cómo ciertas situaciones metabólicas se asocian a la aparición de VLDL de composición alterada la cual condiciona el metabolismo de estas partículas. A nivel de las VLDL-HTG más pequeñas (Sf 20-60) la Apo-B-100 adquiere la conformación que le permite interactuar con dicho receptor, de tal manera que la Apo-B-100 se convierte en el ligando preferencial con una menor participación de la Apo-E, para ser luego aquella el único ligando en las IDL y en las LDL<sup>14,20</sup>. En el caso de las VLDL normales de Sf 20-60, ciertos autores asumen también que la Apo-B-100 es la principal mediadora de su reconocimiento por el receptor B,E<sup>14</sup>. Sin embargo, otros estudios confieren a la Apo-E un mayor protagonismo en ese proceso<sup>130,131</sup>, conclusión que está en consonancia con las anomalías observadas en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos en aquellos individuos que padecen una deficiencia funcional en Apo-E, como son los hipertriglicéridémicos de tipo III.

Se ha llegado a sugerir que la captación de las partículas derivadas del catabolismo de los quilomicrones y la de aquellas derivadas del catabolismo de las VLDL se realiza mediante receptores diferentes: esto es, el receptor E y el receptor B,E, respectivamente. No obstante, estudios *in vitro* y otros cinéticos en pacientes homocigotos para la hipercolesterolemia familiar y en conejos WHHL muestran que dichas partículas tienen la capacidad de interactuar con cualquiera de los dos recepto-

res alternativamente<sup>14</sup>. Pendientes de un mayor avance en este terreno podemos sugerir la posibilidad de que la solución al dilema entre uno u otro receptor varía con la situación fisiológica. Más concretamente, que la disfunción de uno de los dos receptores, un marcado acúmulo de remanentes en el plasma o una alteración en la composición de éstos determina que dichas partículas se aclaren a través de una vía que puede no ser la preferente en condiciones normales.

#### *Heterogeneidad de las VLDL y subfraccionamiento*

Del conjunto de fenómenos que conforman el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, los cuales acabamos de exponer, se desprende que las VLDL que en un momento dado puedan aislarse del plasma constituyen una población de partículas heterogéneas desde los puntos de vista fisicoquímico y metabólico. De todo lo anterior se desprende que el significado funcional de los diferentes tipos de partículas que constituyen las denominadas VLDL puede ser muy variado, existiendo numerosos aspectos que están pendientes de ser esclarecidos. Por ello resulta necesario conocer los métodos disponibles que permiten el aislamiento y purificación de subpoblaciones de VLDL homogéneas y así poder estudiar su particular metabolismo.

La fracción de densidad < 1,006 g/ml comprende un amplio espectro de partículas lipoproteicas con distintos grados de catabolización, a lo cual se superpone la continua entrada en el compartimiento plasmático de partículas de características diversas. La heterogeneidad fisicoquímica que de ello se deriva no sólo corresponde al tamaño y la composición de dichas partículas sino también a cambios más sutiles en la superficie de las mismas, como son los que afectan a la conformación de las apolipoproteínas allí localizadas. Consecuentemente, los criterios en los cuales se fundamentan las técnicas de subfraccionamiento de las VLDL son, así mismo, diversos. Éstos atienden al tamaño, el coeficiente de flotación, la movilidad electroforética o la afinidad de la partícula por ciertos ligandos específicos. Así, las distintas técnicas de subfraccionamiento de las VLDL son: la cromatografía de filtración en gel, ultracentrifugación en gradiente discontinuo de densidad, ultracentrifugación zonal, electroforesis preparativa, cromatografía de afinidad y cromatografía de inmovilización. Estas técnicas constituyen un importante instrumento para el conocimiento de la naturaleza y el metabolismo de las VLDL, así como de las alteraciones asociadas a ciertas situaciones patológicas. Si bien resulta

obvio que los quilomicrones tanto linfáticos como plasmáticos poseen un elevado grado de heterogeneidad, este tema ha sido mucho menos estudiado que en el caso de las VLDL. Ello ha sido en gran parte debido a la escasa densidad y el enorme tamaño de los quilomicrones, aspectos que dificultaban el subfraccionamiento de estas partículas mediante los métodos basados en sus propiedades físicas.

La cromatografía de filtración en gel de agarosa resulta un método efectivo para la separación de distintas subfracciones de las VLDL de acuerdo con su tamaño. De esta manera, se obtiene una población de partículas polidispersas cuyo diámetro se va reduciendo progresivamente al aumentar el volumen de elución<sup>132, 133</sup>. Con el volumen de exclusión de la columna se eluye una pequeña cantidad de partículas de diámetro muy variado y superior a 70-80 nm la cual corresponde principalmente a contaminación por quilomicrones. A continuación se separan sucesivamente VLDL comprendidas en el rango de 80 a 30 nm de diámetro, aunque con un claro predominio de las partículas de menos de 50 nm<sup>132, 133</sup>. Paralelamente a la disminución en el tamaño de la partícula disminuye su contenido en triglicéridos y aumenta su contenido en proteína, fosfolípidos, colesterol esterificado y colesterol libre<sup>132</sup>. El aumento relativo en la fracción proteica se debe especialmente al incremento en la proporción de Apo-B. El resto de los componentes apolipoproteicos disminuyen en relación a la Apo-B, siendo la Apo-C<sub>II</sub> la que experimenta la disminución más acusada, mientras que la Apo-E lo hace al ritmo más lento<sup>133</sup>. Se ha podido comprobar que en las VLDL de ciertos pacientes con hiperlipoproteïnemia tipo IV se registra un incremento en la proporción de partículas de mayor tamaño<sup>132</sup>. No obstante, la composición de las partículas de un diámetro determinado es similar a la de las VLDL de los individuos normolipémicos<sup>132</sup>, salvedad hecha del contenido en Apo-E, el cual es netamente superior en aquellos pacientes<sup>133</sup>.

Dos han sido las principales técnicas de ultracentrifugación aplicadas al subfraccionamiento de las VLDL: la ultracentrifugación en gradiente discontinuo de densidad y la ultracentrifugación zonal. Esta última constituye una modalidad de ultracentrifugación en gradiente de densidad, en este caso continuo, caracterizada por un elevado poder de resolución y gran rapidez de ejecución. Por ello, es una técnica que puede utilizarse con fines preparativos y analíticos simultáneamente. Empleando la ultracentrifugación zonal Patsch et al<sup>134</sup> han demostrado que las VLDL se distribuyen enteramente a lo

largo del espectro Sf 20 a Sf 400 mediante la superposición de subfracciones discretas de partículas con distintas propiedades. Las partículas que en ocasiones se observan con Sf > 400 corresponden a quilomicrones<sup>109</sup>. Ambas modalidades de ultracentrifugación arrojan esencialmente los mismos resultados que la filtración en gel en virtud de la correlación directa existente entre el coeficiente de flotación y el diámetro de la partícula. De esta manera, un menor coeficiente de flotación se corresponde con una partícula empobrecida en triglicéridos y enriquecida en el resto de componentes, entre los que destacan el colesterol esterificado y la Apo-B<sup>109, 120, 128, 133, 134</sup>. Los estudios del grupo de Carlson utilizando la ultracentrifugación en gradiente discontinuo de densidad han puesto de manifiesto también que el número de moléculas de cada uno de los componentes de las VLDL, exceptuando la Apo-B, disminuye conforme se reduce el tamaño de la partícula<sup>109</sup>.

Como puede apreciarse, las propiedades de las distintas subfracciones de las VLDL derivadas de la cromatografía de filtración en gel o la ultracentrifugación en gradiente de densidad se ajustan a los sucesos que acontecen durante el catabolismo en cascada de las VLDL. Las partículas de menor tamaño y más densas pueden representar fundamentalmente remanentes de la degradación parcial de las partículas de mayor tamaño y menos densas. Dichos remanentes pueden ser aclarados de la circulación con el concurso de los receptores celulares, capacidad que adquieren en el rango de Sf 20-60, o bien, mediante la continuación de la lipólisis, dar lugar a partículas de IDL.

A pesar de la heterogeneidad en la composición y tamaño que presentan las VLDL, la electroforesis de estas lipoproteínas en diversos soportes usualmente resulta en una única banda con movilidad pre- $\beta$ . Sin embargo, en ciertas situaciones metabólicas particulares la electroforesis preparativa ha permitido la separación y caracterización de dos poblaciones de VLDL marcadamente diferenciadas. Este es el caso de la hiperlipoproteïnemia tipo III y de la lipoproteïnemia doble pre- $\beta$ . Mediante la electroforesis en bloque de almidón<sup>135</sup>, bloque de Geon-Pevikon<sup>136</sup> o gel de agarosa<sup>137</sup> se han identificado dos subfracciones distintas de VLDL en pacientes tipo III: unas pre- $\beta$  VLDL típicas y unas  $\beta$ -VLDL<sup>135-137</sup>. Las primeras son comparables a las VLDL de los individuos normolipémicos o con hiperlipoproteïnemia de tipo IV, mientras que las  $\beta$ -VLDL son marcadamente más ricas en colesterol y fosfolípidos y más pobres en triglicéridos que las pre- $\beta$ -VLDL<sup>135</sup>. Si bien las  $\beta$ -VLDL pre-

sentan por término medio una menor tasa de flotación y, por tanto, un menor tamaño, la ultracentrifugación en gradiente discontinuo de densidad<sup>135</sup> y la cromatografía de filtración en gel<sup>132</sup> han mostrado que dichas partículas se distribuyen a lo largo de todo el rango de tamaños propio de las VLDL normales. Las  $\beta$ -VLDL son productos del catabolismo parcial de VLDL y quilomicrones<sup>13,136</sup>.

En la lipoproteinemia doble pre- $\beta$  aparece una banda con movilidad pre- $\beta$  típica más una banda adicional con migración más lenta (pre- $\beta$  lenta), aproximadamente intermedia entre la primera y una migración de tipo  $\beta$ . Sobre la base de su composición y tamaño estas VLDL con movilidad pre- $\beta$  lenta deben corresponder a partículas remanentes<sup>138</sup>, pero son netamente diferentes de las  $\beta$ -VLDL de los homocigotos E<sub>2</sub>/E<sub>2</sub>.

De acuerdo con lo expuesto en el apartado dedicado al metabolismo, las subfracciones de las VLDL obtenidas mediante los métodos fundados en sus características físicas contendrán previsiblemente partículas heterogéneas desde el punto de vista metabólico. Las distintas técnicas de cromatografía de afinidad, incluyendo aquí también la inmunoafinidad, constituyen un método de subfraccionamiento basado en un criterio esencialmente funcional. Las moléculas utilizadas como ligandos en la cromatografía de afinidad están dirigidas al componente apolipoproteico de las VLDL. Dichos ligandos se emplean unidos covalentemente a un soporte de agarosa y el complejo resultante se introduce en una columna de cromatografía. La primera técnica que citaremos es la cromatografía de afinidad a la concanavalina A-sefarosa, inspirada en la naturaleza glucoproteica de las apolipoproteínas. Esta técnica discrimina en función tanto de la cantidad como de la calidad de los sacáridos presentes, permitiendo así la separación de un amplio número de subfracciones de VLDL diferentes<sup>139</sup>. Sin embargo, estudios recientes con VLDL segregadas por el hígado perfundido de rata indican que el subfraccionamiento mediante concanavalina A-sefarosa resulta en la producción de artefactos, como son drásticas alteraciones en la composición apoproteica y el tamaño de la partícula<sup>140</sup>.

A raíz del relevante papel que la Apo-E desempeña en la modulación del metabolismo lipoproteico, esta apolipoproteína ha centrado en gran medida la atención a la hora de separar partículas con una distinta calidad funcional. Este es el caso del subfraccionamiento mediante la cromatografía de afinidad a la heparina. La riqueza de la Apo-E en Arg (y en Lys) la capacita para interactuar con la heparina<sup>17,18</sup>. Mediante esta técnica se han separado

entre 2 y 4 subfracciones de VLDL con contenido creciente en Apo-E correlacionado con su afinidad a la heparina<sup>17,141-146</sup>. Generalmente, la riqueza en Apo-E se asocia con un menor contenido en triglicéridos, un mayor contenido en colesterol esterificado, colesterol libre, fosfolípidos y proteínas y un menor tamaño de la partícula con respecto a las VLDL pobres en dicha apolipoproteína<sup>17,141-146</sup>. La distribución de las isoformas de la Apo-E y la Apo-C no presenta diferencias entre las VLDL con distinta afinidad a la heparina, como tampoco varía la relación Apo-C<sub>II</sub>/Apo-C<sub>III</sub><sup>141,143</sup>. Cierta proporción de las VLDL plasmáticas es totalmente deficiente en Apo-E y esta subfracción se caracteriza, junto con su riqueza en triglicéridos y su pobreza en colesterol, por un aumento en el contenido en fosfatidiletanolamina y una disminución en el contenido en esfingomielina<sup>106,144</sup>.

Existe un considerable grado de heterogeneidad en las VLDL, habiéndose comprobado que todas las subfracciones obtenidas mediante ultracentrifugación zonal contienen partículas con bajo y otras con alto contenido en Apo-E<sup>125</sup>. No obstante, los datos composicionales nuevamente inducen a pensar que las subfracciones con distintos contenidos en Apo-E resultantes de la cromatografía en heparina-sefarosa corresponden a VLDL en distintas fases de su metabolismo plasmático. Así, las VLDL con mayor afinidad a la heparina compiten con mayor eficiencia con las LDL por la unión al receptor B,E de fibroblastos<sup>141,144</sup>. Por otro lado, se ha sugerido que al menos parte de las partículas más afines a la heparina proceden de las pobres en Apo-E<sup>142</sup>. Por otra parte, los estudios *in vitro* del grupo de Fielding indican que la hidrólisis de los triglicéridos de las VLDL deficientes en Apo-E a cargo de la LPL induce la adquisición de Apo-E cedida por otras lipoproteínas plasmáticas y la capacidad de interacción de aquellas partículas con la heparina<sup>106</sup>. Por lo tanto, las VLDL pobres en Apo-E pueden corresponder a partículas de síntesis relativamente recientes que, tras su degradación parcial y adquisición de Apo-E, se transforman en partículas en un estadio más avanzado de su catabolismo y ricas en la mencionada apolipoproteína. Estas partículas quedan así facultadas para su aclaramiento hepático o bien, alternativamente, para su transformación en IDL.

Con el objetivo de profundizar en el significado metabólico de estas subfracciones de VLDL, en nuestro laboratorio hemos purificado hasta cuatro subpoblaciones de VLDL con distinto contenido en Apo-E mediante cromatografía de afinidad a la heparina y, previo marcaje con trioleína-C14, se estu-

dió su hidrólisis por acción de la lipoproteína lipasa y de la lipasa hepática purificadas. Observamos que la hidrólisis de las VLDL ricas en Apo-E era menos eficaz que las otras<sup>145</sup>, fenómeno que parece deberse precisamente al alto contenido de esa apolipoproteína ya que la adición de Apo-E a una emulsión artificial de triglicéridos también produce un efecto inhibitor de su hidrólisis por aquellas enzimas<sup>146</sup>.

La cromatografía de afinidad a la heparina también ha permitido poner de manifiesto cambios en la distribución de las subfracciones de VLDL en distintas situaciones fisiopatológicas. Por ejemplo, en los pacientes hiperlipoproteinémicos de los tipos IV y V parece existir una menor proporción de VLDL con capacidad para interaccionar con la heparina que en los normolipémicos<sup>143</sup>. Por el contrario, los del tipo III muestran una mayor proporción de las VLDL ricas en Apo-E (D. Gómez-Coronado, M.A. Lasunción y E. Herrera, resultados no publicados).

Esta técnica también se ha aplicado al estudio de las VLDL de rata y, aunque la información es escasa, los diferentes estudios indican la presencia de dos subfracciones importantes, siendo la rica en Apo-E la mayoritaria<sup>147</sup>, al contrario de lo que se observaba en humanos normolipémicos<sup>56</sup>. Interesantemente este patrón se altera en la rata en ciertas situaciones de hiperlipemia, como es la gestación<sup>147</sup> o la diabetes experimental<sup>148</sup>.

La cromatografía de afinidad está centrando últimamente el interés para el análisis y la purificación de subpoblaciones con diferente composición en apolipoproteínas. Su primera virtud es su alta especificidad pero el hecho de que se requiera la utilización de anticuerpos con relativamente baja afinidad hacia las apolipoproteínas (para que sea factible en la práctica la disociación del complejo antígeno-anticuerpo) y la normalmente baja capacidad de estas columnas, representan un inconveniente a la hora de aplicar estas técnicas con fines preparativos. Mediante esta técnica, por ejemplo, Yamada et al<sup>149</sup> han mostrado que las VLDL de conejo contienen una subfracción totalmente deficiente de Apo-E. Estas lipoproteínas se aclaran del plasma a menor velocidad que las ricas en Apo-E, aumentando así la probabilidad de transformarse en LDL<sup>149</sup>, por lo que su significado metabólico parece diferir del de las VLDL sin Apo-E de humanos<sup>106</sup>.

Por otra parte, con anticuerpos dirigidos a diferentes epítomos de la Apo-B-100 y la B-48 se ha podido demostrar de una manera directa que las VLDL que se acumulan en el plasma de los pacien-

tes con fenotipo III de Fredrickson corresponden a dos poblaciones distintas: unas partículas con Apo-B-48, de origen intestinal, y otras con B-100, de origen hepático<sup>13,150</sup>. También mediante el uso de anticuerpos monoclonales se han llegado a separar subpoblaciones de VLDL cuyas apolipoproteínas presentan diferente grado de "exposición" o de "expresión" en la superficie de la lipoproteína<sup>125</sup>, como han conseguido Krul et al<sup>125</sup> recientemente con anticuerpos frente a la Apo-E. Sin duda ésta es una de las aplicaciones más interesantes de la cromatografía de inmutafinidad.

En resumen, se dispone en la actualidad de una gama de técnicas analíticas y preparativas para el subfraccionamiento de las VLDL que están permitiendo el estudio de su significado funcional. El concepto de que "las VLDL transportan triglicéridos y se transforman en LDL o bien se aclaran directamente del plasma", aun siendo cierto es una simplificación de todo un conjunto de procesos protagonizados por diversas enzimas, apolipoproteínas, lípidos, receptores celulares y proteínas intercambiadoras, no todos ellos bien conocidos. Las distintas subpoblaciones de lipoproteínas pueden representar eslabones de una cadena única o de varias cadenas, independientes o entrelazadas, lo cual todavía está por determinar. Pensamos que el estudio del metabolismo de subpoblaciones homogéneas contribuirá previsiblemente al esclarecimiento de la sucesión de eventos que configuran el metabolismo de las lipoproteínas transportadoras de triglicéridos.

### Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a doña Antonia Arbiell y doña Mercedes Domínguez por su valiosa ayuda en la edición de este trabajo.

### Bibliografía

1. Kane JP, Hardman DA, Paulus HE. Heterogeneity of Apo-B: isolation of a new species from human chylomicrons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77:2.465-2.469.
2. Elovson J, Huang YO, Baker N, Kannan R. Apolipoprotein B is structurally and metabolically heterogeneous in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:157-161.
3. Li W-H, Tanimura M, Luo C-C, Datta S, Chan L. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationships and evolution. *J Lipid Res* 1988; 29:245-271.
4. Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res* 1984; 25:1.277-1.294.

5. Malloy MJ, Kane JP. Hypolipidemia. *Med Clin N Am* 1982; 66:469-484.
6. Malloy ML, Kane JP, Hardman DA, Hamilton RL, Dalal K. Normotriglyceridemic abetalipoproteinemia: absence of the B-100 apolipoprotein. *J Clin Invest* 1981; 67:1.441-1.450.
7. Knott TJ, Pease RJ, Powell LM et al. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature* 1986; 323:734-738.
8. Yang C-Y, Chen S-H, Gianturco SH et al. Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoprotein B-100. *Nature* 1986; 223:738-742.
9. Law SW, Grant SM, Higuchi K et al. Human liver Apo-B-100 cDNA: complete nucleic acid and derived amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:8.142-8.146.
10. Innerarity TL, Young SG, Poksay KS et al. Structural relationship of human apolipoprotein B-48 to apolipoprotein B-100. *J Clin Invest* 1987; 80:1.794-1.798.
11. Sparks JD, Sparks CE. Apolipoprotein B and lipoprotein metabolism. *Adv Lipid Res* 1985; 21:1-46.
12. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47.
13. Hui DY, Innerarity TL, Milne RW, Marcel YL, Mahley RW. Binding of chylomicron remnants and beta-VLDL to hepatic and extrahepatic lipoprotein receptors. A process independent of Apo-B48. *J Biol Chem* 1984; 259:15.060-15.068.
14. Bradley WA, Hwang S-LC, Karlin JB, Lin AHY, Prasad SC, Gotto AJ Jr, Gianturco SH. Low-density lipoprotein receptor binding determinants switch from Apo-E to Apo-B during conversion of hypertriglyceridemic VLDL to low-density lipoproteins. *J Biol Chem* 1984; 259:14.728-14.735.
15. Eisenberg S. Very low density lipoprotein metabolism. En: Paoletti R, ed. *Progress in Biochemical Pharmacology*. Basilea, Karger, 1979; 15:139-165.
16. Marcel YL, Weech PK, Milthorpe P, Terce F, Vezina C, Milne RW. Monoclonal antibodies and the characterization of apolipoprotein structure and function. *Prog Lipid Res* 1985; 23:169-195.
17. Shelburne FA, Quarfordt SH. The interaction of heparin with an apoprotein of human very low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1977; 60:944-950.
18. Mahley RW, Weisgraber KH, Innerarity TL. Interaction of plasma lipoproteins containing apolipoproteins B and E with heparin and cell surface receptors. *Biochim Biophys Acta* 1979; 575:81-89.
19. Hirose N, Blankenship DT, Krivanek MA, Jackson RL, Cardin AD. Isolation and characterization of four heparinbinding cyanogen bromide peptides of human plasma apolipoprotein B. *Biochemistry* 1987; 26:5.505-5.512.
20. Schonfeld G, Krul ES. Immunologic approaches to lipoprotein structure. *J Lipid Res* 1986; 27:583-601.
21. Chapman MJ. Comparative analysis of mammalian plasma lipoproteins. En: Segrest JP, Albers JJ, eds. *Methods in Enzymology*. Londres, Academic Press, 1986; 128:70-143.
22. Swaney JB, Gidez LI. Analysis of rat serum apolipoproteins by isoelectric focusing. II. Studies on the low molecular weight subunits. *J Lipid Res* 1977; 18:69-76.
23. Soutar AK, Garner CW, Baker HN et al. Effect of human plasma apolipoproteins and phosphatidylcholine acyl donor on the activity of lecithin: cholesterol acyltransferase. *Biochemistry* 1987; 26:3.057-3.064.
24. Jackson RL. Lipoprotein lipase and hepatic lipase. En: Boyer PB, ed. *The Enzymes*. Londres, Academic Press, 1983; 16:141-181.
25. Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, Chow A, Poapst M. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C<sub>II</sub>. *N Engl J Med* 1978; 298:1.265-1.273.
26. Jackson RL, Balasubramaniam A, Murphy RF, Demel RA. Interactions of synthetic peptides of apolipoprotein C<sub>II</sub> and lipoprotein lipase at monomolecular lipid films. *Biochim Biophys Acta* 1986; 875:203-210.
27. Ginsberg HN, Le NA, Goldberg IJ et al. Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins C<sub>III</sub> and A<sub>I</sub>. Evidence that apolipoprotein C<sub>III</sub> inhibits catabolism of triglyceride rich lipoproteins by lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1986; 78:1.287-1.295.
28. Jackson RL, Tajima S, Yamamura T, Yokoyama S, Yamamoto A. Comparison of apolipoprotein C<sub>II</sub> deficient triacylglycerol-rich lipoproteins and trioleoylglycerol phosphatidylcholine stabilized particles as substrate for lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta* 1986; 875:211-219.
29. Havel RJ, Kotite L, Kane JP. Isoelectric heterogeneity of the cofactor protein for lipoprotein lipase in human blood plasma. *Biochem Med* 1979; 21:121-128.
30. Shelburne F, Hanks J, Meyers W, Quarfordt S. Effect of apoproteins on hepatic uptake of triglyceride emulsions in the rat. *J Clin Invest* 1980; 65:652-658.
31. Windler E, Chao YS, Havel RJ. Regulation of the hepatic uptake of triglyceride-rich lipoproteins in the rat. Opposing effects of homologous Apo-E and individual C apoproteins. *J Biol Chem* 1980; 252:8.303-8.307.
32. Catapano AL. Activation of LPL by Apo-C<sub>III</sub> is modulated by the COOH terminal region of Apo-C<sub>III</sub>. *Chem Phys Lipids* 1987; 45:39-47.
33. Ehnolm MC, Mahley RW, Chappel DA, Weisgraber KH, Cudwi GE, Witztum JL. Role of Apo-E in the lipolytic conversion of beta-VLDL to LDL in type III hyperlipoproteinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:5.566-5.570.
34. Eisenberg S. High density lipoproteins metabolism. *J Lipid Res* 1984; 25:1.017-1.058.
35. Schneider WJ, Kovanen PT, Brown ME et al. Familial dysbetalipoproteinemia. Abnormal binding of mutant Apo-E to LDL receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal from rats, rabbits and cows. *J Clin Invest* 1981; 68:1.075-1.085.
36. Schneider WJ, Kovanen PT, Brown MS. Familial dysbetalipoproteinemia. Abnormal binding of mutant apoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits, and cows. *J Clin Invest* 1981; 68:1.086-1.088.
37. Mahley RW, Innerarity TL. Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 1983; 737:197-222.
38. Zannis VI, Breslow JL. Apolipoprotein E. *Mol Cell Biochem* 1982; 42:3-20.
39. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8:1-21.
40. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-630.
41. Innerarity TL, Hui DY, Bersot TP, Mahley RW. Type III hyperlipoproteinemia: a focus on lipoprotein receptor-apolipoprotein E2 interactions. En: Angel A, Frohlich J, eds. *Advances in experimental medicine and biology*. Nueva York, Plenum Press, 1986; 201:273-288.
42. Weisgraber KH, Rall SC Jr, Mahley RW, Milne RW, Marcel YL, Sparrow JT. Human apolipoprotein E. Determination of the heparin binding sites of apolipoprotein E3. *J Biol Chem* 1986; 261:2.068-2.076.
43. Lin CT, Xu Y, Wu JY, Chan L. Immunoreactive apolipoprotein E is a widely distributed cellular protein. Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in baboon tissues. *J Clin Invest* 1986; 78:947-958.
44. Hui DY, Innerarity TL, Mahley RW. Lipoprotein binding to canine hepatic membranes. Metabolically distinct Apo-E and Apo-B<sub>100</sub> receptors. *J Biol Chem* 1981; 256:5.646-5.655.
45. Gianturco SH, Bradley WA. The role of apolipoprotein processing in receptors recognition of VLDL. En: Albers JJ, Segrest JP, eds. *Methods in enzymology*. Londres, Academic Press 1986; 129:319-344.
46. Clark AB, Quarfordt SH. Apolipoprotein effects on the lipolysis of perfused triglyceride by heparin-immobilized milk lipase. *J Biol Chem* 1985; 260:4.778-4.783.
47. Taskinen MJ, Kuusi T. Enzymes involved in triglyceride hydrolysis. *Baillière's Clin Endocrinol Metab* 1987; 1:639-666.
48. Llobera M, Montes A, Herrera E. Lipoprotein lipase activity in liver of the rat fetus. *Biochem Biophys Res Commun* 1979; 91:272-277.
49. Vilaró S, Reina M, Ramirez I, Llobera M. Intralipid administration induces a lipoprotein lipase-like activity in the livers of starved adult rats. *Biochem J* 1986; 236:273-278.
50. Cryer A. Tissue lipoprotein lipase activity and its action in lipoprotein metabolism. *Int J Biochem* 1981; 13:525-541.
51. McLean LR, Demel RA, Socorro L, Shinomiya M, Jackson RL. Mechanism of action of lipoprotein lipase. En: Albers JJ, Segrest

- JP. Methods in Enzymology. Londres, Academic Press, 1986; 129:738-763.
52. Olivecrona T, Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase: an attempt to correlate its molecular properties to its function. *Int J Obesity* 1985; 9 (suppl. 1):109-116.
  53. Cryer A. Lipoprotein lipase: molecular interactions of the enzyme. *Biochem Soc Transac* 1985; 13:27-28.
  54. Robinson DS, Speake BK. Role of insulin and other hormones in the control of lipoprotein lipase activity. *Biochem Soc Transac* 1989; 17:40-42.
  55. Ramírez I, Llobera M, Herrera E. Circulating triacylglycerols, lipoproteins, and tissue lipoprotein lipase activities in rat mothers and offspring during the perinatal period: effect of postmaturity. *Metabolism* 1983; 32:333-341.
  56. Herrera E, Lasunción MA, Gómez-Coronado D, Aranda P, López-Luna P, Maier I. Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:1.575-1.580.
  57. Ong JM, Kirchgessner TG, Schotz MC, Kern PA. Insulin increases the synthetic rate and messenger mRNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem* 1988; 263:12.933-12.938.
  58. Knobler H, Chajek-Shaul T, Stein O, Etienne J, Stein Y. Modulation of lipoprotein lipase in the intact rat by cholera toxin, an irreversible agonist of cyclic AMP. *Acta Biochim Biophys* 1984; 795:363-371.
  59. Parkin SM, Speake BK, Robinson DS. Turnover of lipoprotein lipase in rat adipose tissue. *Biochem Soc Transac* 1985; 13:139.
  60. Lasunción MA, Herrera E. Changes with starvation in the rat of the lipoprotein lipase activity and hydrolysis of triacylglycerols from triacylglycerol-rich lipoproteins in adipose tissue preparations. *Biochem J* 1983; 210:639-643.
  61. Pradines-Figueres A, Vannier C, Ailhaud G. Short term stimulation by insulin of lipoprotein lipase secretion in adipose cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 154:982-990.
  62. Cisar LA, Hoogewerf AJ, Cupp M, Rapport CA, Bensadoun A. Secretion and degradation of lipoprotein lipase in cultured adipocytes. Binding of lipoprotein lipase to membrane sulfate proteoglycans is necessary for degradation. *J Biol Chem* 1989; 264:1.767-1.774.
  63. Olivecrona T, Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase from milk. The model enzyme in lipoprotein lipase research. En: Borensztajn J, ed. *Lipoprotein lipase*. Chicago, Evers Publishers, 1987; 15-58.
  64. Ganesan D, Bass HB, McConathy WJ, Alaupovic P. Is decreased activity of C<sub>II</sub> activated lipoprotein lipase in type III hyperlipoproteinemia (Broad-beta-disease) a cause or an effect of increased apolipoprotein E levels? *Metabolism* 1976; 25:1.189-1.195.
  65. Grot PHE, Oerlemans MC, Scheck LM. Triglyceridase and phospholipase A<sub>1</sub> activities of rat-heart lipoprotein lipase. Influence of apolipoproteins C<sub>II</sub> and C<sub>III</sub>. *Biochim Biophys Acta* 1978; 530: 91-98.
  66. Lukens TW, Borensztajn J. Effects of C apoproteins on the activity of endothelium-bound lipoprotein lipase. *Biochem J* 1978; 175:1.143-1.146.
  67. Schrecker O, Greten H. Activation and inhibition of lipoprotein lipase studies with artificial lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1979; 572:244-256.
  68. Jones SMA, Younan SIM, Graham A, Rogers MP. Inhibition of human rat lipoprotein lipase by high-density lipoprotein. *Acta Biochim Biophys* 1986; 878:250-257.
  69. Yamada M, Murase T. Modulation by apolipoprotein E of lipoprotein lipase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1980; 94:710-715.
  70. Smith LC, Pownall HJ. Lipoprotein lipase. En: Borsgstrom B, Brockman HL, eds. *Lipases*. Amsterdam, Elsevier 1984; 263-305.
  71. Jackson RL, Pattus F, De Haas G. Mechanism of action of milk lipoprotein lipase at substrate interfaces: effects of apolipoproteins. *Biochemistry* 1980; 19:373-378.
  72. Galton DJ, Holdsworth G, Stocks J, Dodson PM. Variant lipoproteins and their interaction with lipoprotein lipase. En: *Diabetes, Obesity and Hyperlipidemias II*. Crepaldi G, Lefebvre PJ, Galton DJ. Londres, Academic Press, 1983; 135-144.
  73. Holdsworth G, Noel JG, Kashyap ML, Jackson RL. Kinetics of lipoprotein lipase interaction with triacylglycerol-rich lipoproteins carrying excess apolipoprotein C<sub>III</sub>. *Biochem Soc Transac Leeds*, 1985; 13:131-132. 609th Meeting.
  74. Stoline AM, Saku K, Hynd BA, Kashyap ML. Effect of desialylation of very low-density lipoproteins on their catabolism by lipoprotein lipase. *Metabolism* 1985; 34:30-35.
  75. Quarfordt SH, Hilderman H, Greenfield MR, Shelburne FA. The effect of human arginine rich apoprotein on rat adipose lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 78:302-308.
  76. Schmitz G, Assman G, Augustin J, Dirkes-Kersting A, Brennhansen B, Karoff C. Characterization of very low density lipoproteins and intermediate density lipoproteins of normo and hyperlipidemic apolipoprotein E-2 homozygotes. *J Lipid Res* 1985; 26:316-326.
  77. Chung BH, Segrest JP. Resistance of a VLDL subpopulation from familial dysbetalipoproteinemia to *in vitro* lipolytic conversion to the low density lipoprotein density fraction. *J Lipid Res* 1983; 24:1.148-1.159.
  78. Posner I, Wang CS, McConathy WJ. The comparative kinetics of soluble and heparin-sepharose-immobilized bovine lipoprotein lipase. *Arch Biochem Biophys* 1983; 226:306-316.
  79. Reardon MF, Sakai H, Steiner G. Roles of LPL and hepatic triglyceride lipase in the catabolism *in vivo* of triglyceride-rich lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1982; 2:396-402.
  80. Lasunción MA, Llobera M, Herrera E. Morphological and compositional changes of rat plasma triglyceride-rich lipoproteins incubated with adipose tissue. *Arch Inter Physiol Biochim* 1981; 89:57-62.
  81. Deckelbaum RJ, Eisenberg S, Oschry Y, Granot E, Sharon I, Bengtsson-Olivecrona G. Conversion of human plasma high density lipoprotein-2 to high density lipoprotein-3. Roles of neutral lipids exchange and triglyceride lipases. *J Biol Chem* 1986; 261:5.201-5.208.
  82. Baginsky ML, Brown WV. Differential characteristics of purified hepatic triglyceride lipase and lipoprotein lipase from human postheparin plasma. *J Lipid Res* 1977; 18:423-437.
  83. Doolittle MH, Wong G, Davis RC, Schotz MC. Synthesis of hepatic lipase in liver and extrahepatic tissues. *J Lipid Res* 1987; 28:1.326-1.334.
  84. Nikkila EA, Kuusi T, Taskinen MR, Tikkanen MJ. Regulation of lipoprotein metabolism by endothelial lipolytic enzymes. En: Carlson LA, Olsson AG, eds. *Treatment of Hyperlipoproteinemia*. Nueva York, Raven Press, 1984; 77-84.
  85. Kinnunen PKJ. Hepatic endothelial lipase. En: Borsgstrom B, Brockman HL, eds. *Lipases*. Amsterdam, Elsevier, 1984; 307-328.
  86. Shinomiya M, Sasaki N, Barnhart RL, Shirai K, Jackson RL. Effect of apolipoproteins on the hepatic lipase-catalyzed hydrolysis of human plasma high density lipoprotein-2-triacylglycerols. *Biochim Biophys Acta* 1982; 713:292-299.
  87. Landis BA, Rotolo FS, Meyers WC, Clark AB, Quarfordt SH. Influence of Apo-E on soluble and heparin-immobilized hepatic lipase. *Am J Physiol* 1987; 252:G805.
  88. Daggy BP, Bensadoun A. Enrichment of Apo B-48 in the LDL density class following *in vivo* inhibition of hepatic lipase. *Biochim Biophys Acta* 1986; 877:252-261.
  89. Jansen H, Hulsman WC. Enzymology and physiological role of hepatic lipase. *Biochem Soc Transac. Leeds*, 1985; 13:24-26. 609th Meeting.
  90. Grosser J, Schrecker O, Greten H. Function of hepatic triglyceride lipase in lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1981; 22:437-442.
  91. Havel RJ. The formation of LDL: mechanisms and regulation. *J Lipid Res* 1984; 25:1.570-1.576.
  92. Manzato E, Zambon S, Marin R, Baggio G, Crepaldi G. Modifications of plasma lipoproteins after lipase activation in patients with chylomicronemia. *J Lipid Res* 1986; 27:1.248-1.258.
  93. Demacker PNM, Hijmans AGM, Stalenhoef AFH, Van't Laar A. Studies on the function of hepatic lipase in the cat after immunological blockade of the enzyme *in vivo*. *Atherosclerosis* 1988; 69:173-183.
  94. Nozaki S, Kubo M, Sudo H, Matsuzawa Y, Tarvi S. The role of hepatic triglyceride lipase in the metabolism of IDL. Postheparin lipolytic activities determined by a sensitive, nonradioisotopic method in hyperlipidemic patients and normals. *Metabolism* 1986; 35:53-58.

95. Borensztajn J, Kotlar TJ. Hepatic uptake of phospholipid-depleted chylomicrons *in vivo*. *Biochem J* 1981; 200:547-553.
96. Dolphin PJ. Lipoprotein metabolism and the role of apoproteins as metabolic programmers. *Can J Biochem Cell Biol* 1985; 63:850-869.
97. Green PHR, Glickman RM. Intestinal lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1981; 22:1.153-1.173.
98. Bisgaier CL, Glickman RM. Intestinal synthesis, secretion, and transport of lipoproteins. *Ann Rev Physiol* 1983; 45:625-636.
99. Shepherd J, Packard CJ. Metabolic heterogeneity in very low-density lipoproteins. *Am Heart J* 1987; 113:503-508.
100. Windmueller HG, Spaeth AE. Regulation of biosynthesis and divergent metabolism of three forms of hepatic apolipoprotein B in the rat. *J Lipid Res* 1985; 26:70-81.
101. Davis RA, Boogaerts JR, Borchardt RA, Malone-McNeal M, Archambault-Schexnayder J. Intrahepatic assembly of VLDL. Varied synthetic response of individual apolipoproteins to fasting. *J Biol Chem* 1985; 260:14.137-14.144.
102. Dolphin PJ, Forsyth SJ, Krul ES. Post-secretory acquisition of Apo-E by nascent rat hepatic VLDL in the absence of cholesteryl ester transfer. *Biochim Biophys Acta* 1986; 875:21-30.
103. Wilcox HG, Heimberg M. Secretion and uptake of nascent hepatic VLDL by perfused livers from fed and fasted rats. *J Lipid Res* 1987; 28:351-360.
104. Nestel PJ, Fidge NH. The physiology of plasma lipoproteins. En: Miller NE, Lewis B, eds. *Lipoproteins, atherosclerosis and coronary heart disease*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1981; 3-29.
105. Dashti N, Wolfbauer G. Secretion of lipids, apolipoproteins, and lipoproteins by human hepatoma cell line, HepG2: effect of oleic acid and insulin. *J Lipid Res* 1987; 28:423-436.
106. Ishikawa Y, Fielding CJ, Fielding PE. A change in Apo-B expression is required for the binding of Apo-E to VLDL. *J Biol Chem* 1988; 263:2.744-2.749.
107. Eisenberg S. Plasma lipoprotein conversions. En: Segreest JP, Albers JJ, eds. *Methods in Enzymology*. Londres, Academic Press, 1986; 129:347-366.
108. Vant'Hooft FM, Hardman DA, Kane JP, Havel RJ. Apo-B (B-48) of rat chylomicrons is not a precursor of the apolipoprotein of LDL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:179-182.
109. Kuchinskiene Z, Carlson LA. Composition, concentration, and size of LDL and of subfractions of VLDL from serum of normal men and women. *J Lipid Res* 1982; 23:762-769.
110. Pascht JR, Gotto AM Jr, Olivecrona T, Eisenberg S. Formation of HDL<sub>2</sub>-like particles during lipolysis of VLDL *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:1978; 4.519-4.523.
111. Windler E, Preyer S, Greten H. Change in affinity of triglyceride-rich lipoproteins of Apo-C<sub>II</sub> during lipolysis. En: Carlson LA, Olsson AG, eds. *Treatment of hyperlipoproteinemia*. Nueva York, Raven Press, 1984; 95-98.
112. Tam SP, Dory L, Runbinstein D. Fate of Apo-C<sub>II</sub>, C<sub>III</sub> and E during lipolysis of human VLDL *in vitro*. *J Lipid Res* 1981; 22:641-651.
113. Packard CJ, Munro A, Lorimer AR, Gotto AM, Shepherd J. Metabolism of Apo-B in large triglyceride-rich VLDL of normal and hypertriglyceridemic subjects. *J Clin Invest* 1984; 74:2.178-2.192.
114. Havel RJ. Role of the liver in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1985; 5:569-580.
115. Miller JP, Gotto AM Jr. The plasma lipoproteins. Their formation and metabolism. En: Neuberger A, Van Beenen LLM, eds. *Comprehensive Biochemistry*. Amsterdam, Elsevier, 1982; 119B (II):419-506.
116. Sparks CE, March JB. Metabolic heterogeneity of Apo-B in the rat. *J Lipid Res* 1981; 22:519-527.
117. Rudel LL, Parks JS, Johnson FL, Babiak J. Low density lipoproteins in atherosclerosis. *J Lipid Res* 1986; 27:465-474.
118. Tall AR. Plasma lipid transfer proteins. *J Lipid Res* 1986; 27:361-367.
119. Tollefson JH, Liu A, Albers JJ. Regulation of plasma lipid transfer by the high-density lipoproteins. *Am J Physiol* 1988; 255:E894-E902.
120. Eisenberg S. Preferential enrichment of large-sized VLDL populations with transferred cholesteryl esters. *J Lipid Res* 1985; 26:487-494.
121. Fielding CJ. Factors affecting the rate of catalyzed transfer of cholesteryl esters in plasma. *Am Heart J* 1987; 113:532-537.
122. Oschry Y, Eisenberg S. Rat plasma lipoproteins: reevaluation of a lipoprotein system in an animal devoid of cholesteryl ester transfer activity. *J Lipid Res* 1982; 23:1.099-1.106.
123. Floren C-H, Nilsson A. Hepatic chylomicron remnant (Apo-E) receptors. Their physiologic and clinical importance. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22:513-520.
124. Van Berkel TJC, Kruijt JK, Van Gent T, Van Tol A. Saturable high affinity binding, uptake and degradation of rat plasma lipoproteins by isolated parenchymal and non-parenchymal cells from rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1985; 665:22-33.
125. Krul ES, Tikkanen MJ, Schonfeld G. Heterogeneity of Apo-E epitope expression on human lipoproteins: importance for Apo-E function. *J Lipid Res* 1988; 29:1.309-1.325.
126. Gianturco SH, Brown FB, Gotto AM Jr, Bradley WA. Receptor-mediated uptake of hypertriglyceridemic VLDL by normal human fibroblast. *J Lipid Res* 1982; 23:984-993.
127. Gianturco SH, Packard CJ, Shepherd J, Smith LC, Catapano AL, Sybers HD, Gotto AM Jr. Abnormal suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase activity in cultured human fibroblast by hypertriglyceridemic VLDL subclasses. *Lipids* 1980; 15:456-463.
128. Catapano AL, Gianturco SH, Kinnunen PKJ, Eisenberg S, Gotto AM Jr, Smith LC. Suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by LDL produced *in vitro* by LPL action on nonsuppressible VLDL. *J Biol Chem* 1979; 254:1.007-1.009.
129. Borensztajn J, Getz GS, Kotlar TJ. Uptake of chylomicron remnants by the liver: further evidence for the modulating role of phospholipids. *J Lipid Res* 1988; 29:1.087-1.096.
130. Stalenhoff AFH, Malloy MJ, Kane JP, Havel RJ. Metabolism of Apo-B-48 and B-100 of triglyceride rich lipoproteins in normal and lipoprotein lipase-deficient humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:1.839-1.842.
131. Dashti N, Wolfbauer G. Studies on the binding and degradation of human VLDL by human hepatoma cell line Hep G2. *Biochim Biophys Acta* 1986; 875:473-486.
132. Sata T, Havel RJ, Jones AL. Characterization of subfractions of triglyceride-rich lipoproteins separated by gel chromatography from blood plasma of normolipemic and hyperlipemic humans. *J Lipid Res* 1972; 13:757-768.
133. Kane JP, Sata T, Hamilton RL, Havel RJ. Apoprotein composition of VLDL of human serum. *J Clin Invest* 1975; 56:1.622-1.634.
134. Patsch W, Patsch JR, Kostner JM, Sailer S, Braunsteiner H. Isolation of subfractions of human VLDL by zonal ultracentrifugation. *J Biol Chem* 1978; 253:4.911-4.915.
135. Quarfordt S, Levy RI, Fredrickson DS. On the lipoprotein abnormality in type III hyperlipoproteinemia. *J Clin Invest* 1971; 50:754-761.
136. Fainaru M, Mahley RW, Hamilton RL, Innerarity TL. Structural and metabolic heterogeneity of beta-BLDL from cholesterol-fed dogs and from humans with type III hyperlipoproteinemia. *J Lipid Res* 1982; 23:702-714.
137. Pagnan A, Havel JR, Kane JP, Kotite L. Characterization of human VLDL containing two electrophoretic populations: double pre-beta lipoproteinemia and primary dysbetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 1977; 18:613-622.
138. Carlson LA, Ericsson M. Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis. Part I. Studies in healthy men and women. *Atherosclerosis* 1975; 21:417-433.
139. Shore VG, Shore B. Heterogeneity of human plasma VLDL. Separation of species differing in protein components. *Biochemistry* 1973; 12:502-507.
140. Schroeder F, Kier AB, Kinden DA, Wilcox HG, Mawhinney TP. Composition and properties of VLDL secreted by the perfused rat liver and subfractionated by affinity chromatography. *Acta Biochim Biophys* 1987; 917:62-73.
141. Trezzi E, Calvi C, Roma P, Catapano AL. Subfractionation of human VLDL by heparin-sepharose affinity chromatography. *J Lipid Res* 1983; 24:790-795.
142. Nestel P, Billington T, Tada N, Nugent P, Fidge N. Heterogeneity of VLDL metabolism in hyperlipidemic subjects. *Metabolism* 1983; 32:810-817.

143. Huff MW, Telford DE. Characterization and metabolic fate of two VLDL subfractions separated by heparin-Sepharose chromatography. *Biochim Biophys Acta* 1984; 796:251-261.
144. Fielding PE, Fielding CJ. An Apo-E-free VLDL enriched in phosphatidylethanolamine in human plasma. *J Biol Chem* 1986; 261:5.233-5.236.
145. Gómez-Coronado D, Lasunción MA, Orozco E, Herrera E. Hydrolysis of 3H-triolein labelled VLDL by lipoprotein and hepatic lipases. 50th European Atherosclerosis Society Meeting, Valencia, 1987.
146. Gómez-Coronado D, Lasunción MA, Herrera E. Efecto de la apolipoproteína E sobre la hidrólisis de una emulsión de triglicéridos por la lipoproteína lipasa. I Congreso Sociedad Española de Arteriosclerosis, Madrid, 1989.
147. Herrera E, Gómez-Coronado D, Lasunción MA. Lipid metabolism in pregnancy. *Biol Neonate* 1987; 51:70-77.
148. Nakai T, Oida K, Tamai T, Kutsumi Y, Kobayashi T, Hayashi T, Takeda R, Yamada S. Heparin-Sepharose 4B affinity chromatography of plasma VLDL from streptozotocin-induced diabetic rats. *Artery* 1982; 10:202-221.
149. Yamada N, Shames DM, Stoudemire JB, Havel RJ. Metabolism of lipoproteins containing Apo-B-100 in blood plasma of rabbits: heterogeneity related to the presence of Apo-E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:3.479-3.483.
150. Milne RW, Weech PK, Blanchette L, Davignon J, Alaupovic P, Marcel YL. Isolation and characterization of Apo-B-48 and B-100 VLDL from type III hyperlipoproteinemic subjects. *J Clin Invest* 1984; 73:816-823.