



ORIGINAL

La apolipoproteína A-II altera la composición apolipoproteica de HDL y su capacidad para activar la lipoproteína lipasa

Josep Julve^a, Cristina Muñoz García^a, David Santos^a, Francisco Blanco-Vaca^{a,b,c}
y Joan Carles Escolà-Gil^{a,c,*}

^aCIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, CIBERDEM, Barcelona, España

^bDepartament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

^cServei de Bioquímica i Institut de Recerca, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

Recibido el 19 de mayo de 2010; aceptado el 4 de junio de 2010

Disponible en Internet el 18 de septiembre de 2010

PALABRAS CLAVE

ApoA-II;
ApoC;
HDL;
Lipoproteína lipasa;
Triglicéridos

Resumen

Introducción: La apolipoproteína (apo) A-II es la segunda proteína cuantitativamente más importante de las HDL; sin embargo su función es poco conocida. Los estudios realizados en humanos y ratones modificados genéticamente han demostrado un efecto de la apoA-II sobre el metabolismo de los triglicéridos. El objetivo principal de este estudio es analizar la relación entre la apoA-II y la composición apolipoproteica de las HDL así como la capacidad de estas lipoproteínas de modular la actividad de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) y, por tanto, la concentración de triglicéridos.

Métodos: Se recogieron muestras de sangre en 32 voluntarios sanos tras 11 h de ayuno. Se recogieron los datos antropométricos y se determinaron los parámetros lipídicos y apolipoproteicos. Las HDL aisladas por ultracentrifugación fueron incubadas con una emulsión radioactiva de triglicéridos y LPL bovina. En 14 de los voluntarios, se obtuvo una muestra adicional de sangre, 3 h después de un desayuno.

Resultados: La concentración de apoA-II correlacionó de forma positiva con la concentración de triglicéridos ($R=0,55$, $p<0,05$) y de forma inversa con el cociente apoC-II+apoE/apoC-III en HDL ($R=-0,43$, $p<0,05$). La apoA-II también correlacionó inversamente con la capacidad de las HDL de modular la actividad LPL ($R=-0,35$, $p<0,05$). Por último, la concentración de apoA-II correlacionó positivamente con los triglicéridos postprandiales ($R=0,58$, $p<0,05$).

Conclusión: Estos resultados sugieren que la apoA-II en HDL tiene un papel importante en la regulación del metabolismo de los triglicéridos y sugieren que, en parte, ello es debido a la alteración en la capacidad de las HDL de modular la actividad LPL.

© 2010 Elsevier España, S.L. y SEA. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jescola@santpau.cat (J.C. Escolà-Gil).

KEYWORDS

ApoA-II;
ApoC;
HDL;
Lipoprotein lipase;
Triglyceride

Apolipoprotein A-II affects HDL apolipoprotein composition and HDL-mediated lipoprotein lipase activation

Abstract

Introduction: Apolipoprotein (apo)A-II is the second most abundant HDL protein but its function remains largely unknown. Studies in humans and genetically-modified mice have demonstrated a role for apoA-II in triglyceride metabolism. The main objective of this study was to evaluate the relationship between apoA-II and HDL apolipoprotein composition, as well as HDL-mediated lipoprotein lipase (LPL) coactivation and plasma triglyceride concentration.

Methods: Eleven-hour fasting blood samples were taken from 32 healthy volunteers. Anthropometric data and lipid and apolipoprotein parameters were analyzed. HDL isolated by ultracentrifugation was incubated in the presence of a triolein-based emulsion and bovine LPL. In 14 of these volunteers, an additional blood sample was taken 3 h after breakfast.

Results: ApoA-II concentration was directly correlated with plasma triglycerides ($R=0.55$, $p<0.05$) and inversely correlated with the HDL-apoC-II+apoE/apoC-III ratio ($R=-0.43$, $p<0.05$). ApoA-II was also inversely correlated with HDL-mediated LPL coactivation ($R=-0.35$, $p<0.05$). ApoA-II concentration was directly correlated with plasma triglycerides 3 h after the fat-loading test ($R=0.58$, $p<0.05$).

Conclusion: These results show that HDL-apoA-II levels play a crucial role in triglyceride catabolism and suggest that, at least in part, this is due to modulation of LPL activity.

© 2010 Elsevier España, S.L. and SEA. All rights reserved.

Introducción

La función de la apolipoproteína (apo) A-II en el metabolismo lipoproteico y su relación con la arteriosclerosis es poco conocida, a pesar de ser la segunda proteína cuantitativamente más importante de las lipoproteínas de alta densidad (HDL)¹⁻⁴. Los estudios realizados en ratones modificados genéticamente indican que es muy probable que la apoA-II tenga un papel en la regulación del metabolismo de los triglicéridos, ya que los ratones transgénicos de apoA-II murídica y humana presentan un incremento plasmático de ácidos grasos libres (AGL) y del contenido de colesterol y triglicéridos de las lipoproteínas que contienen apoB⁵⁻¹⁷. Ratones deficientes en apoA-II presentan una disminución de AGL y triglicéridos, hipersensibilidad a la insulina y un catabolismo acelerado de partículas ricas en triglicéridos¹⁸. Por contra, la sobreexpresión de apoA-II se ha relacionado con obesidad y resistencia a la insulina¹⁵ y una producción aumentada de VLDL^{12,13,19}. Sin embargo, no se ha aclarado completamente si la variabilidad en apoA-II causa un aumento en la síntesis de triglicéridos, una reducción en su catabolismo o ambas cosas^{10-13,17-20}.

Estudios en humanos también han demostrado una relación entre apoA-II y la concentración de AGL y triglicéridos²¹⁻²³. Varios estudios poblacionales han evaluado la relación entre el polimorfismo -265 T>C situado en el promotor del gen de la apoA-II, el metabolismo postprandial de los triglicéridos y la obesidad visceral²⁴⁻²⁷. Van't Hooft et al²⁴ encontraron que los portadores del alelo -265 C tenían concentraciones reducidas de apoA-II y de apoB100 en las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Dos estudios posteriores independientes han demostrado que la concentración de triglicéridos y de VLDL > 60 nm en situación postprandial estaba disminuida en los portadores -265 C^{26,27}, aunque en estos casos la concentración de apoA-II no fue determinada. Algunos de estos estudios han analizado la relación existente entre este

polimorfismo y las medidas antropométricas con resultados controvertidos²⁴⁻²⁶. En el primero de ellos, los portadores de -265 C presentaban menos grasa visceral²⁴; sin embargo, en los otros dos estudios se encontró que -265 C estaba asociado con un mayor riesgo de obesidad^{25,26}. Más recientemente, un estudio realizado en tres poblaciones independientes de EUA ha demostrado que los portadores de -265 C que ingerían una elevada cantidad de grasas saturadas presentaban un mayor índice de masa corporal y obesidad comparados con los portadores de -265 T²⁸. Cabe destacar que la región 1q21-24 (la apoA-II está localizada en 1q23) presenta ligamiento genético con la diabetes mellitus tipo 2 (DM2)²⁹⁻³³. Además, en familias holandesas con hiperlipemia familiar combinada (HFC), las concentraciones plasmáticas de apoA-II estaban incrementadas en pacientes con respecto de los individuos normolipémicos²². En este sentido, dos estudios recientes han identificado ligamiento genético entre el factor de transcripción USF1 y la HFC en familias finlandesas y asociación con la concentración de glucosa y parámetros lipídicos en un estudio multicéntrico con individuos sanos europeos^{34,35}. Debido a que el USF1 regula la expresión de apoA-II, estos datos sugieren un papel modulador de la apoA-II en la HFC y DM2^{1,20}.

El objetivo de este estudio es evaluar la relación existente entre la apoA-II, los triglicéridos y la composición apolipoproteica de las HDL en sujetos humanos sanos, así como la capacidad de sus HDL para activar la hidrólisis de triglicéridos de las partículas ricas en triglicéridos mediada por la lipoproteína lipasa (LPL).

Materiales y métodos**Estudios en sujetos humanos**

Se seleccionaron 32 voluntarios (25 mujeres y 7 hombres) sanos y homocigotos para el alelo E3. A todos ellos se les

realizó una analítica en el laboratorio de bioquímica del hospital y rellenaron un cuestionario para descartar del estudio aquellos individuos con diabetes, enfermedad renal o hepática, historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura o que tomaran medicamentos que pudieran afectar la concentración de las diferentes lipoproteínas. Se recogió la sangre por venopunción tras un ayuno de 11 h en tubos EDTA-citrato. El estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona y ha cumplido las normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975, con la revisión de octubre de 2000.

Determinaciones bioquímicas

El genotipo de apoE fue determinado mediante un ensayo validado (Assays-on-Demand) en un detector Applied Biosystems Prism 7000 para PCR a tiempo real (Applied Biosystems). Se determinó en cada individuo las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos, AGL, apoB, el colesterol de HDL (cHDL), apoA-I, apoA-II, apoE, apoCII y apoCIII a partir de métodos comerciales adaptados a un autoanalizador BM/HITACHI 911 (Roche Diagnostics, Wako y Kamiya Biomedical Company). Las HDL se aislaron mediante ultracentrifugación secuencial y se determinó la composición lipídica y apolipoproteica de las HDL con los métodos comerciales descritos anteriormente³⁶.

Ensayos de activación LPL mediado por las HDL

Las HDL aisladas por ultracentrifugación se incubaron con una emulsión de [³H]-triglicéridos marcada radiactivamente en un volumen final de 200 µl de una solución que contiene 50 mM MgCl₂, 0,05% fatty acid-free-BSA y 25 mM PIPES, pH 7,5. La concentración final de HDL fue en todos los casos de 0,5 µg/µl de proteína. La emulsión se incubó a 37 °C durante 60 min para inducir la transferencia de apoCs y, posteriormente, se incubó con 0,2 U de LPL bovina (Sigma) durante 60 min más a 27 °C. La actividad LPL se determinó tal y como se ha descrito anteriormente¹².

Desayuno graso y toma de muestras posprandiales

A 14 de los voluntarios (9 mujeres y 5 hombres), se les extrajo sangre como muestra basal en ayunas de 11 h y, posteriormente, tomaron un desayuno conteniendo 1 g de grasa por kg de peso en un plazo inferior a 20 min. La comida contenía un 65% de su energía en forma de grasa, un 15% de carbohidratos y un 20% de proteína. Permanecieron en reposo 3 h pudiendo beber agua. A las 3 h, se les tomó una muestra de sangre posprandial y se determinaron las concentraciones de lípidos y apolipoproteínas tal y como se ha descrito en el apartado anterior.

Métodos estadísticos

En primer lugar, se calcularon los datos descriptivos de los datos antropométricos y de las variables bioquímicas así como las pruebas de normalidad con un test de Kolmogorov-Smirnov. La asociación entre la apoA-II y otras variables lipoproteicas y antropométricas se determinó con el test de

Tabla 1 Características antropométricas y bioquímicas en ayunas de los 32 voluntarios (25 mujeres y 7 varones)

	Media	Rango
Edad	38,2	24–62
IMC (kg/m ²)	23,2	17,3–37,1
Colesterol (mM)	4,5	3,4–6,9
Colesterol HDL (mM)	1,5	0,8–2,3
Triglicéridos (mM)	0,89	0,37–2,2
AGL (mM)	0,41	0,11–0,82
ApoA-I (g/l)	1,5	1,1–2,4
ApoA-II (mg/dl)	31,5	22,5–45,4
ApoB (g/l)	0,74	0,42–1,21
ApoC-II (g/l)	3,2	1,6–6,1
ApoC-III (g/l)	19,7	6,6–27,7
ApoE (g/l)	4,2	2,8–9,1

AGL: ácidos grasos libres; IMC: índice de masa corporal.

correlación de Pearson. La influencia de la sobrecarga de grasa sobre las distintas variables bioquímicas se determinó con un test t de Student para datos apareados. Se utilizó el programa GraphPad Prism version 4.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Se consideraron estadísticamente significativos a los valores de $p < 0,05$.

Resultados

Los datos mostrados en la **tabla 1** representan los datos bioquímicos y antropométricos en ayunas de los voluntarios del estudio. Todas las variables siguieron una distribución normal. Los datos analíticos demostraron que los varones tenían el cHDL y la concentración plasmática de apoA-I más bajos ($1,2 \pm 0,08$ vs $1,6 \pm 0,07$ y $1,3 \pm 0,04$ vs $1,5 \pm 0,05$, respectivamente, $p < 0,05$), y el IMC y los triglicéridos más altos ($26,6 \pm 1,6$ vs $22,3 \pm 0,8$ y $1,31 \pm 0,25$ vs $0,78 \pm 0,07$, respectivamente, $p < 0,05$). Sin embargo, no había diferencias significativas en el resto de variables (**tabla 1**). Los datos de las tablas 2 y 3 no mostraron diferencias tanto si los análisis de correlación se realizaban en mujeres, como en mujeres y hombres en conjunto. Por ello, los datos mostrados a lo largo de todo el manuscrito incluyen a todos los varones y mujeres del estudio.

Con respecto al análisis de correlación de la apoA-II con las variables antropométricas y plasmáticas (**tabla 2**), los valores de apoA-II correlacionaron con los valores de colesterol, triglicéridos, apoA-I, apoB, apoC-II y apoC-III.

La HDL de cada uno de los individuos se separó por ultracentrifugación y se analizó la correlación entre la apoA-II y la relación de apoC y apoE en estas HDL así como la capacidad de estas lipoproteínas de alterar la actividad de la LPL. La apoA-II correlacionaba inversamente con el cociente apoE/apoA-I y apoC-II+apoE/apoC-III de las HDL y con la capacidad de estas partículas para estimular la acción de la LPL sobre la emulsión radioactiva de triglicéridos (**tabla 3**).

Los valores posprandiales de los triglicéridos en 14 de estos voluntarios fueron estadísticamente superiores a los basales (**fig. 1A**). La apoA-II correlacionó positivamente con las concentraciones plasmáticas de colesterol ($R=0,82$, $p=0,0003$), triglicéridos ($R=0,58$, $p=0,028$; **fig. 1B**) y apoB ($R=0,73$, $p=0,0032$) en situación posprandial. Sin

Tabla 2 Análisis de correlación de la apoA-II con el resto de parámetros de la tabla 1

	ApoA-II	
	R	P
Edad	0,25	0,1645
IMC (kg/m ²)	0,11	0,5363
Colesterol	0,69	0,0001*
Colesterol HDL	0,22	0,2260
Triglicéridos	0,55	0,0012*
AGL	0,24	0,1996
ApoA-I	0,54	0,0014*
ApoB	0,52	0,0022*
ApoC-II	0,37	0,0374*
ApoC-III	0,63	0,0001*
ApoE	0,18	0,3229

R: coeficiente de correlación de Pearson.
*p<0,05.

Tabla 3 Análisis de correlación de la apoA-II con la relación de apoC-II, apoC-III y apoE en las HDL y la capacidad de estas lipoproteínas para activar la LPL

	ApoA-II	
	R	P
Cociente apoC-II/C-III en HDL	-0,33	0,0640
Cociente apoE/apoAI en HDL	-0,39	0,0275*
Cociente apoC-II+apoE/apoC-III en HDL	-0,43	0,0153*
% activación de LPL bovina por la HDL	-0,35	0,0481*

R: coeficiente de correlación de Pearson.
*p<0,05.

embargo, la concentración de apoA-II no se correlacionó con el cHDL, AGL y apoA-I. Tampoco hubo correlación significativa entre estos 3 parámetros y la concentración de triglicéridos posprandial.

Discusión

Existen muchos trabajos en la literatura que indican que la apoA-II regula la concentración de triglicéridos en ratones^{1-4,17,19} y, también, en humanos^{1,22-24,26,27}. Sin embargo, el mecanismo preciso por el cual la apoA-II influye en el metabolismo de los triglicéridos no está claramente definido.

En nuestro estudio, la variabilidad en apoA-II correlacionó con la concentración de triglicéridos en individuos sin patologías previas y con valores de apoA-II humana que oscilaban entre 22,5 y 45,4 mg/dl. Un estudio reciente ha demostrado que en una línea de ratones transgénicos de apoA-II humana, la hipertrigliceridemia posprandial era debida, en parte, a un incremento severo en la concentración plasmática de apoA-II humana y del contenido de apoA-II de los quilomicrones que actuaba directamente como inhibidor de LPL¹⁷. Esta observación tiene algunos precedentes en estudios realizados con humanos^{37,38}. En

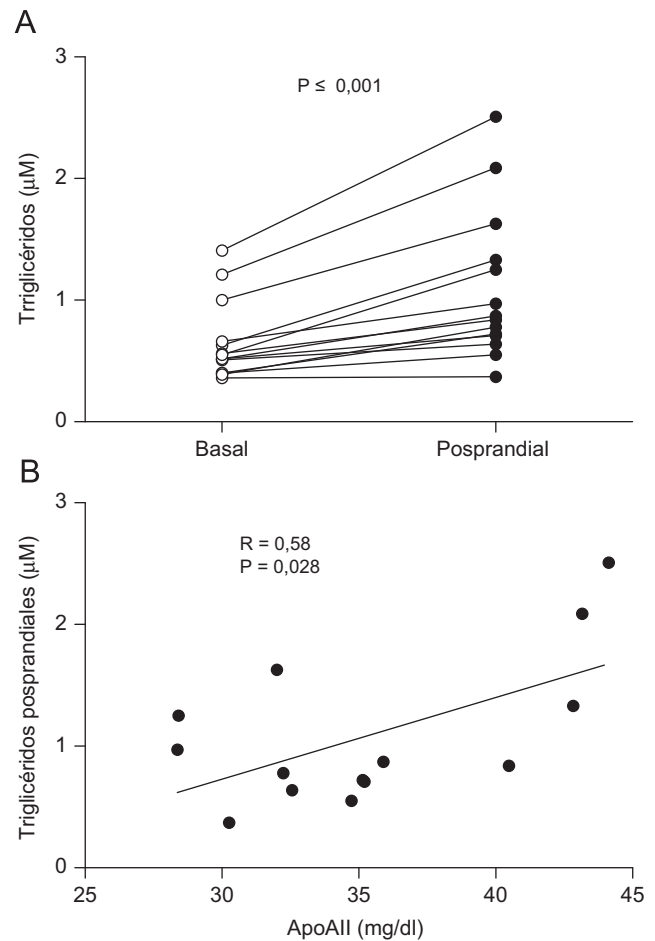


Figura 1 A) Valores de los triglicéridos en ayunas y postprandiales de 14 voluntarios. B) Análisis de regresión lineal de la apoA-II con los triglicéridos posprandiales. R: coeficiente de correlación de Pearson.

cambio, la concentración de apoA-II en los voluntarios de este estudio no se alteró en la situación posprandial y la concentración de apoA-II en quilomicrones fue inferior a 0,1 mg/dl en todos los casos y no correlacionó con los triglicéridos posprandiales. Así, nuestros datos sugieren que un incremento notable de apoA-II en quilomicrones y la consecuente inhibición de LPL no parece ser un mecanismo fisiológico en humanos. Sin embargo, no podemos descartar que la apoA-II pueda inhibir directamente a la LPL en determinadas situaciones patológicas como en la enfermedad de Tangier y en las hiperlipemias de tipo V^{37,38}.

Nuestros datos indican que la apoA-II puede influir directamente en la composición de las HDL, alterar la transferencia de determinadas apolipoproteínas a los quilomicrones e influir en la capacidad lipolítica de la LPL in vitro. Así, los individuos con elevadas concentraciones de apoA-II tenían un cociente apoC-II+apoE/apoC-III disminuido en HDL y unas HDL con menor capacidad de activar la LPL frente a una emulsión artificial de triglicéridos (tabla 3). ApoC-II es un conocido activador de LPL, mientras que apoC-III es un inhibidor³⁹. ApoE puede también ejercer efectos sobre la LPL, aunque su función principal está relacionada con la unión a receptores de la lipoproteínas ricas en triglicéridos⁴⁰. De hecho, una parte importante de

apoC-II, apoC-III y apoE son transferidos desde HDL a los quilomicrones en situación posprandial y, ello, puede afectar al catabolismo de estas lipoproteínas y, consecuentemente, la concentración de triglicéridos⁴¹⁻⁴³. Parece así concebible que una alteración en la concentración de estas apolipoproteínas en HDL y una transferencia anómala a los quilomicrones pueda alterar su catabolismo en individuos con elevadas concentraciones de apoA-II. Otra posibilidad, consistente con estudios previos, es que la apoA-II humana desplace otras proteínas de la superficie de las HDL, como la apoA-I, la paraxonasa, apoC-II, C-III y apoE⁴⁴⁻⁴⁹. El desplazamiento de algunas de estas proteínas, especialmente la apoC-II, de HDL podría explicar, en parte, la asociación de apoA-II con los triglicéridos y la capacidad anómala de estas HDL para activar la LPL. En este contexto, la disminución relativa de HDL2 que presentan los hipertriglicéridémicos⁴⁷ podría tener un papel activo en la fisiopatología de estos individuos reduciendo la actividad LPL.

Una limitación importante de este estudio es que no se realizó un análisis de la curva posprandial de triglicéridos en cada individuo y la determinación de triglicéridos en situación posprandial solo se realizó 3 h después de la ingestión del desayuno. Todo ello podría subestimar la correlación de la apoA-II con los triglicéridos posprandiales en estos individuos.

En conclusión, nuestro estudio demuestra que un exceso de apoA-II en HDL puede contribuir a la hipertriglicéridemia mediante la alteración de la composición de las HDL, probablemente alterando la transferencia de las apoC-II, apoC-III y apoE y, por ello, la actividad de la LPL.

Contribución autores

JJ analizó los datos del estudio y participó en su interpretación. CMG y DS realizaron los análisis bioquímicos. JCEG y FBV realizaron el diseño del estudio y participaron en su interpretación. Todos los autores colaboraron en la redacción del borrador del artículo y revisión crítica de su contenido y dieron su aprobación final de la versión a publicar.

Financiación

Este estudio ha sido financiado gracias a una beca de la Sociedad/Fundación Española de Arteriosclerosis para Investigación Básica (2008). CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas es un proyecto del Instituto de Salud Carlos III.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Bibliografía

- Blanco-Vaca F, Escola-Gil JC, Martin-Campos JM, Julve J. Role of apoA-II in lipid metabolism and atherosclerosis: advances in the study of an enigmatic protein. *J Lipid Res.* 2001;42:1727-39.
- Tailleux A, Duriez P, Fruchart JC, Clavey V. Apolipoprotein A-II, HDL metabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2002;164:1-13.
- Kalopissis AD, Pastier D, Chambaz J. Apolipoprotein A-II: beyond genetic associations with lipid disorders and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol.* 2003;14:165-72.
- Martin-Campos JM, Escola-Gil JC, Ribas V, Blanco-Vaca F. Apolipoprotein A-II, genetic variation on chromosome 1q21-q24, and disease susceptibility. *Curr Opin Lipidol.* 2004;15:247-53.
- Hedrick CC, Castellani LW, Warden CH, Puppione DL, Lusis AJ. Influence of mouse apolipoprotein A-II on plasma lipoproteins in transgenic mice. *J Biol Chem.* 1993;268:20676-82.
- Warden CH, Hedrick CC, Qiao JH, Castellani LW, Lusis AJ. Atherosclerosis in transgenic mice overexpressing apolipoprotein A-II. *Science.* 1993;261:469-72.
- Zhong S, Goldberg IJ, Bruce C, Rubin E, Breslow JL, Tall A. Human ApoA-II inhibits the hydrolysis of HDL triglyceride and the decrease of HDL size induced by hypertriglyceridemia and cholesteryl ester transfer protein in transgenic mice. *J Clin Invest.* 1994;94:2457-67.
- Marzal-Casacuberta A, Blanco-Vaca F, Ishida BY, Julve-Gil J, Shen J, Calvet-Marquez S, et al. Functional lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency and high density lipoprotein deficiency in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein A-II. *J Biol Chem.* 1996;271:6720-8.
- Julve-Gil J, Ruiz-Pérez E, Casaroli-Marano RP, Marzal-Casacuberta A, Escola-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;48:415-21.
- Boisfer E, Lambert G, Atger V, Tran NQ, Pastier D, Benetollo C, et al. Overexpression of human apolipoprotein A-II in mice induces hypertriglyceridemia due to defective very low density lipoprotein hydrolysis. *J Biol Chem.* 1999;274:11564-72.
- Escola-Gil JC, Julve J, Marzal-Casacuberta A, Ordonez-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;41:1328-38.
- Julve J, Escola-Gil JC, Marzal-Casacuberta A, Ordonez-Llanos J, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. Increased production of very-low-density lipoproteins in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein A-II and fed with a high-fat diet. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1488:233-44.
- Escola-Gil JC, Julve J, Marzal-Casacuberta A, Ordonez-Llanos J, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. ApoA-II expression in CETP transgenic mice increases VLDL production and impairs VLDL clearance. *J Lipid Res.* 2001;42:241-8.
- Hedrick CC, Castellani LW, Wong H, Lusis AJ. In vivo interactions of apoA-II, apoA-I, and hepatic lipase contributing to HDL structure and antiatherogenic functions. *J Lipid Res.* 2001;42:563-70.
- Castellani LW, Goto AM, Lusis AJ. Studies with apolipoprotein A-II transgenic mice indicate a role for HDLs in adiposity and insulin resistance. *Diabetes.* 2001;50:643-51.
- Escola-Gil JC, Blanco-Vaca F, Julve J. Overexpression of human apolipoprotein A-II in transgenic mice does not increase their susceptibility to insulin resistance and obesity. *Diabetologia.* 2002;45:600-1.
- Dugue-Pujol S, Rousset X, Pastier D, Quang NT, Pautre V, Chambaz J, et al. Human apolipoprotein A-II associates with triglyceride-rich lipoproteins in plasma and impairs their catabolism. *J Lipid Res.* 2006;47:2631-9.
- Weng W, Breslow JL. Dramatically decreased high density lipoprotein 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 USA.* 1996;93:14788-94.
- Castellani LW, Nguyen CN, Charugundla S, Weinstein MM, Doan CX, Blaner WS, et al. Apolipoprotein AII Is a Regulator of Very

- Low Density Lipoprotein Metabolism and Insulin Resistance. *J Biol Chem.* 2008;283:11633–44.
20. Escola-Gil JC, Julve J, Martin-Campos JM, Blanco-Vaca F. Apolipoprotein A-II. En: Fielding CJ, editor. *High-Density Lipoproteins: from Basic Biology to Clinical Aspects.* Wiley-VCH; 2007.
 21. Warden CH, Daluiski A, Bu X, Purcell-Huynh DA, De Meester C, Shieh BH, et al. Evidence for linkage of the apolipoprotein A-II locus to plasma apolipoprotein A-II and free fatty acid levels in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:10886–90.
 22. Allayee H, Castellani LW, Cantor RM, de Bruin TW, Lusis AJ. Biochemical and genetic association of plasma apolipoprotein A-II levels with familial combined hyperlipidemia. *Circ Res.* 2003;92:1262–7.
 23. Birjmohun RS, Dallinga-Thie GM, Kuivenhoven JA, Stroes ES, Otvos JD, Wareham NJ, et al. Apolipoprotein A-II is inversely associated with risk of future coronary artery disease. *Circulation.* 2007;116:2029–35.
 24. Van 't Hooft FM, Ruotolo G, Boquist S, de Faire U, Eggertsen G, Hamsten A. Human evidence that the apolipoprotein a-II gene is implicated in visceral fat accumulation and metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Circulation.* 2001;104:1223–8.
 25. Lara-Castro C, Hunter GR, Lovejoy JC, Gower BA, Fernández JR. Apolipoprotein A-II polymorphism and visceral adiposity in African-American and white women. *Obes Res.* 2005;13:507–12.
 26. Corella D, Arnett DK, Tsai MY, Kabagambe EK, Peacock JM, Hixson JE, et al. The $-256T>C$ polymorphism in the apolipoprotein A-II gene promoter is associated with body mass index and food intake in the genetics of lipid lowering drugs and diet network study. *Clin Chem.* 2007;53:1144–52.
 27. Delgado-Lista J, Pérez-Jimenez F, Tanaka T, Pérez-Martínez P, Jimenez-Gómez Y, Marin C, et al. An apolipoprotein A-II polymorphism ($-265T/C$, rs5082) regulates postprandial response to a saturated fat overload in healthy men. *J Nutr.* 2007;137:2024–8.
 28. Corella D, Peloso G, Arnett DK, Demissie S, Cupples LA, Tucker K, et al. APOA2, dietary fat, and body mass index: replication of a gene-diet interaction in 3 independent populations. *Arch Intern Med.* 2009;169:1897–906.
 29. Hanson RL, Ehm MG, Pettitt DJ, Prochazka M, Thompson DB, Timberlake D, et al. An autosomal genomic scan for loci linked to type II diabetes mellitus and body-mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet.* 1998;63:1130–8.
 30. Elbein SC, Hoffman MD, Teng K, Leppert MF, Hasstedt SJ. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes.* 1999;48:1175–82.
 31. Vionnet N, Hani El H, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, et al. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1470–80.
 32. Wiltshire S, Hattersley AT, Hitman GA, Walker M, Levy JC, Sampson M, et al. A genomewide scan for loci predisposing to type 2 diabetes in a UK population (the Diabetes UK Warren 2 Repository): analysis of 573 pedigrees provides independent replication of a susceptibility locus on chromosome 1q. *Am J Hum Genet.* 2001;69:553–69.
 33. Hsueh WC, St Jean PL, Mitchell BD, Pollin TI, Knowler WC, Ehm MG, et al. Genome-wide and fine-mapping linkage studies of type 2 diabetes and glucose traits in the Old Order Amish: evidence for a new diabetes locus on chromosome 14q11 and confirmation of a locus on chromosome 1q21–q24. *Diabetes.* 2003;52:550–7.
 34. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusis AJ, Gentile M, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet.* 2004;36:371–6.
 35. Putt W, Palmén J, Nicaud V, Tregouet DA, Tahri-Daizadeh N, Flavell DM, et al. Variation in USF1 shows haplotype effects, gene : gene and gene : environment associations with glucose and lipid parameters in the European Atherosclerosis Research Study II. *Hum Mol Genet.* 2004;13:1587–97.
 36. Martin-Campos JM, Julve J, Escola JC, Ordoñez-Llanos J, Gómez J, Binimelis J, et al. ApoA-I(MALLORCA) impairs LCAT activation and induces dominant familial hypoalphalipoproteinemia. *J Lipid Res.* 2002;43:115–23.
 37. Wang CS, Alaupovic P, Gregg RE, Brewer Jr HB. Studies on the mechanism of hypertriglyceridemia in Tangier disease. Determination of plasma lipolytic activities, k_1 values and apolipoprotein composition of the major lipoprotein density classes. *Biochim Biophys Acta.* 1987;920:9–19.
 38. Alaupovic P, Knight-Gibson C, Wang CS, Downs D, Koren E, Brewer Jr HB, et al. Isolation and characterization of an apoA-II-containing lipoprotein (LP-A-II:B complex) from plasma very low density lipoproteins of patients with Tangier disease and type V hyperlipoproteinemia. *J Lipid Res.* 1991;32:9–19.
 39. Shachter NS. Apolipoproteins C-I and C-III as important modulators of lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:297–304.
 40. Heeren J, Beisiegel U. Intracellular metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:255–60.
 41. Taskinen MR, Glueck CJ, Kashyap ML, Srivastava LS, Hynd BA, Perisutti G, et al. Post-heparin plasma lipoprotein and hepatic lipases. Relationships to high density lipoprotein cholesterol and to apolipoprotein CII in familial hyperalphalipoproteinemic and in normal subjects. *Atherosclerosis.* 1980;37:247–56.
 42. Goldberg IJ, Scheraldi CA, Yacoub LK, Saxena U, Bisgaier CL. Lipoprotein ApoC-II activation of lipoprotein lipase. Modulation by apolipoprotein A-IV. *J Biol Chem.* 1990;265:4266–72.
 43. Dallinga-Thie GM, Berk II P, Bootsma AH, Jansen H. Atorvastatin decreases apolipoprotein C-III in apolipoprotein B-containing lipoprotein and HDL in type 2 diabetes: a potential mechanism to lower plasma triglycerides. *Diabetes Care.* 2004;27:1358–64.
 44. Ribas V, Sánchez-Quesada JL, Anton R, Camacho M, Julve J, Escola-Gil JC, et al. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. *Circ Res.* 2004;95:789–97.
 45. Scanu AM, Lagocki P, Chung J. Effect of apolipoprotein A-II on the structure of high-density lipoproteins: relationship to the activity of lecithin: cholesterol acyl transferase in vitro. *Ann NY Acad Sci.* 1980;348:160–73.
 46. Schaefer EJ, Foster DM, Jenkins LL, Lindgren FT, Berman M, Levy RI, et al. The composition and metabolism of high density lipoprotein subfractions. *Lipids.* 1979;14:511–22.
 47. Patsch JR, Prasad S, Gotto Jr AM, Patsch W. High density lipoprotein 2. Relationship of the plasma levels of this lipoprotein species to its composition, to the magnitude of postprandial lipemia, and to the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase. *J Clin Invest.* 1987;80:341–7.
 48. Cheung MC, Albers JJ. Distribution of high density lipoprotein particles with different apoprotein composition: particles with A-I and A-II and particles with A-I but no A-II. *J Lipid Res.* 1982;23:747–53.
 49. Davidson WS, Silva RA, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ, Kontush A. Proteomic analysis of defined HDL subpopulations reveals particle-specific protein clusters: relevance to antioxidative function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:870–6.