

# El fenotipo de lipoproteína(a): ¿un marcador genético de enfermedad coronaria?

J.J. Gómez-Barrado<sup>a</sup>, S. Turégano<sup>a</sup>, J.C. García-Rubira<sup>b</sup> y J.M. Cruz<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cardiología. Hospital San Pedro de Alcántara. Cáceres. España.

<sup>b</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

<sup>c</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

**Objetivo.** Estudiar la relación entre las concentraciones séricas de lipoproteína(a) y el fenotipo de apolipoproteína(a) en un grupo de varones con síndrome coronario agudo.

**Pacientes y método.** Se determinaron las concentraciones séricas de lipoproteína(a) y el fenotipo de apolipoproteína(a) a 22 varones de entre 30 y 80 años con síndrome coronario agudo, al ingreso y al mes de evolución.

**Resultados.** Los varones con un síndrome coronario agudo muestran una frecuencia elevada de fenotipos de apolipoproteína(a) de tamaño pequeño y concentraciones más elevadas de lipoproteína(a).

**Conclusiones.** El fenotipo de apolipoproteína(a) puede desempeñar un papel adicional en la etiología de la enfermedad arterial coronaria.

**Palabras clave:**

Lipoproteína(a). Apolipoproteínas. Enfermedad coronaria.

apolipoprotein(a) phenotypes and higher lipoprotein(a) concentrations.

**Conclusions.** Apolipoprotein(a) phenotype may play an additional role in the etiology of coronary artery disease.

**Key words:**

Lipoprotein(a). Apolipoproteins. Coronary heart disease.

## LIPOPROTEIN(A) PHENOTYPE: A GENETIC MARKER FOR CORONARY HEART DISEASE?

**Objective.** To study the relationship between the plasma concentrations of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotype in a group of males with acute coronary syndromes.

**Patients and method.** Plasma lipoprotein(a) concentrations and apolipoprotein(a) phenotype were determined in twenty-two males aged thirty to eighty years with acute coronary syndrome on admission and at one month of follow-up.

**Results.** Patients with acute coronary syndrome showed a high frequency of small-sized

## Introducción

La lipoproteína(a) o Lp(a) es una partícula lipoproteica de composición muy similar a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que contiene una glucoproteína específica, la apolipoproteína(a) –apo(a)–, unida a la apo B-100 por puentes disulfuro<sup>1</sup>.

El gen de la apo(a) se localiza en el brazo largo del cromosoma 6 humano y presenta un elevado polimorfismo genético; se ha descubierto gran cantidad de alelos que codifican proteínas con gran variabilidad en su tamaño y peso molecular, según los distintos fenotipos. Se ha propuesto, además, la presencia de un alelo nulo operacional, ya que hay individuos en los que no aparece ninguna isoforma, aunque esto posiblemente se deba a la escasa detectabilidad analítica.

Utterman et al diferenciaron 6 isoformas de apo(a) y las clasificaron, según su movilidad electroforética comparada con la de la apo B-100, y de menor a mayor peso molecular en: F (migra más rápido), B (migra igual), S1, S2, S3 y S4 (migran más lento)<sup>2</sup>.

Más recientemente, Lackner et al han reconocido hasta 34 alelos que codifican isoformas de Lp(a)<sup>3</sup>, con lo que ha disminuido la frecuencia de alelo nulo.

Los individuos homocigotos para una isoforma de apo(a) presentan una población unimodal de partículas de Lp(a), mientras que entre los hetero-

Correspondencia: Dr. José Javier Gómez-Barrado.  
Plaza de Noruega, 7, 1.º A. 10005 Cáceres. España.  
Correo electrónico: jjgbarrado@terra.es

cigotos se detectan 2 poblaciones, cada una con un tipo de apo(a), que se diferencian por el rango de densidades en el que se separan.

Las concentraciones plasmáticas de Lp(a) presentan escasa variabilidad interindividual, por lo que se sugiere que ésta está influida en gran medida por factores genéticos. La concentración plasmática de Lp(a) se relaciona con las distintas isoformas, de modo que existe una relación inversa entre las concentraciones plasmáticas de Lp(a) y su tamaño<sup>4,5</sup>. De esta manera, los fenotipos con isoformas de menor peso molecular aparente (B, S1 y S2) presentan concentraciones plasmáticas más elevadas de Lp(a) que los fenotipos con isoformas de mayor peso molecular (S3 y S4)<sup>6,7</sup>.

La Lp(a) ha suscitado gran interés en las últimas décadas, al habersele atribuido un papel aterogénico que le confiere una similitud con las LDL, y diversos estudios epidemiológicos han revelado su carácter de factor de riesgo cardiovascular. Al ser una lipoproteína de gran influencia genética y, por tanto, con posible poder predictivo desde edades jóvenes, se ha postulado que podría ser un factor de riesgo para el desarrollo prematuro de aterosclerosis.

En la enfermedad aterosclerótica coronaria se ha demostrado una prevalencia aumentada de las isoformas de menor peso molecular que se asocian a concentraciones elevadas de Lp(a), lo que sugiere que, al menos en parte, el polimorfismo genético de la Lp(a) determina el riesgo para enfermedad coronaria<sup>8,9</sup>.

Como objetivo nos proponemos determinar la relación existente entre las concentraciones séricas de Lp(a) y el fenotipo de apo(a) en un grupo de pacientes varones de entre 30 y 80 años con síndrome coronario agudo (SCA).

## Pacientes y métodos

Se estudió a 22 pacientes varones de entre 30 y 80 años que ingresaron consecutivamente en la unidad coronaria en un plazo no superior a 3 h desde el comienzo de los síntomas de angina inestable o infarto agudo de miocardio.

Se obtuvo una primera determinación de la concentración sérica de Lp(a) y los fenotipos de las isoformas de apo(a) dentro de las 3 primeras horas de evolución del cuadro agudo. Las mismas determinaciones analíticas se repitieron a los 30 días de evolución.

## Lipoproteína(a)

La determinación de lipoproteína(a) se llevó a cabo con el SPQ™ Test System de Incstar Corporation. Es un método de inmunoprecipitación automatizado, y ha sido realizado en el autoanalizador RA-SystemsXT de Technicon. El método está basado en la reacción de un anticuerpo y la partícula de Lp(a) de la muestra. Se forma un complejo antígeno-anticuerpo insoluble, y después de un período de incubación de 10 min se mide el aumento de turbidimetría.

## Isoformas de Lp(a)

La determinación del fenotipo de Lp(a) se realizó mediante electroforesis en gel SDS-Page y posterior *immunoblotting*. Para la preparación de la muestra se preincubaron 10 µl de suero durante 10 min a temperatura ambiente en 80 µl de tampón (0,06 M Tris, pH 8,6, SDS 5,4% y 0,002% de azul de bromofenol) y se añadieron 5 µl de mercaptoetanol.

La electroforesis se realizó en geles SDS poliacrilamida que contienen 3,75% de acrilamida, 0,10% de bisacrilamida y 0,75% de agarosa. El tampón de electroforesis contenía 25 mM Tris, 0,2 M glicina y 0,1% SDS. La electroforesis se realizó a temperatura ambiente durante 4 h a 20 mA constantes con una cubeta Mini-Protean II (Bio Rad). Posteriormente las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa de 0,45 µm (Bio Rad cat. n.º 162-0115), en un tampón (Tris 25 mM, glicina 0,2 M y 20% metanol) durante 5 h a 15 Vh constante en un equipo de transferencia, Unidad Multiphor (Pharmacia). La membrana fue bloqueada durante 1 h en 20 mmol Tris/HCl pH 7,5 y 0,5 mol/l de NaCl (TBS) con 3% sérico de albúmina bovina (BSA).

La apo(a) se detectó en la membrana de nitrocelulosa al incubarla con un primer anticuerpo anti-Lp(a) humana de cabra diluido 1:500 en TBS durante toda la noche. Tras sucesivos lavados de la membrana, se incubó durante 2 h con un segundo anticuerpo anticabra de conejo conjugado con fosfatasa alcalina. Las bandas se visualizaron tras incubación la membrana con una solución de desarrollo que contiene 5 bromo 4 cloro 3 indoxilofosfato (BCIP) y Nitroblue Tetrazolim (NBT).

Para identificar las distintas isoformas de Lp(a) se utilizó un estándar de Lp(a) humana (referencia Inmino AGA-1221 Wien) que permitía la visualización de las isoformas S1, S2, S3 y S4 de mayor peso molecular que la apo B-100 y que migran más lentamente que ésta, y las F con peso molecular menor y mucho más rápidas que la apo B-100.

## Definición de variables

**Síndrome coronario agudo.** Término que agrupa todos los cuadros coronarios agudos (angina inestable, infarto de miocardio sin onda Q e infarto de miocardio con onda Q) que tienen una fisiopatología común y actitudes terapéuticas similares, salvo en lo que respecta a la trombólisis.

**Fenotipos de Lp(a).** Los fenotipos de Lp(a) se clasificaron según Utermann et al<sup>2</sup> en 6 isoformas distintas: nulo, S4, S3, S2, B y F, de mayor a menor peso molecular. Los sueros de cada sujeto pueden tener una (homocigotos) o dos (heterocigotos) de estas isoformas, por lo que existirían múltiples fenotipos diferentes de Lp(a).

Con el objetivo de facilitar el tratamiento estadístico de los resultados, ya que se trata de una serie pequeña de pacientes, hemos realizado una clasificación adicional de las isoformas de apo(a) en 2 subgrupos: isoformas de mayor tamaño (incluye el fenotipo "nulo" y homocigotos S4 y S3) e isoformas de menor tamaño (incluye homocigotos S2, B y F). En el caso de fenotipos heterocigotos, hemos considerado a la isoforma de menor peso molecular como la representativa del fenotipo determinado, asignando a uno u otro subgrupo los fenotipos heterocigotos en función de este criterio, ya que Gaubatz et al<sup>10</sup> demostraron que en la mayoría de los fenotipos heterocigotos la banda correspondiente a la isoforma de menor peso molecular es la que se tiñe con mayor intensidad.

## Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se han llevado a cabo mediante el programa estadístico SPSS-PC usando un ordenador 486 DX266.

Los datos basales se presentan en forma de valores medios y desviaciones estándar para las variables cuantitativas o de variación continua, o en forma de frecuencias expresada en porcentajes para las variables cualitativas o nominales.

La comparación entre grupos de porcentajes de pacientes a partir de variables cualitativas (discretas) se realizó mediante la prueba de la  $\chi^2$  de Pearson.

Como las concentraciones de Lp(a) no siguen una distribución normal, se compararon entre sí y con otras variables mediante pruebas no paramétricas: prueba de la U de Mann-Whitney para la comparación entre grupos y prueba de la suma de rangos de Wilcoxon para las comparaciones apareadas.

Se consideró para todos los análisis estadísticamente significativos un valor de  $p < 0,05$ . Cuando el valor de  $p$  estaba entre 0,05 y 0,1, se consideró que existía tendencia estadística.

## Resultados

Hemos encontrado un total de 7 fenotipos distintos: nulo, S2, S2B, S3, S3B, S3S4 y S4.

En la tabla 1 se muestran las isoformas de apo(a) y los valores de Lp(a) (en mg/dl) en cada uno de los pacientes a los que se les determinó. Las isoformas se determinaron en las muestras de ingreso y del mes; en ningún caso se observó un cambio en el fenotipo de apo(a).

Analizando los resultados individualmente, las isoformas de mayor tamaño (nulo, S4, S3S4 y S3) tienen menor concentración de Lp(a) que las de menor tamaño (S2, S3B y S2B); sin embargo, se observa alguna discordancia en 2 individuos que son homocigotos S2 y sin embargo presentan valores muy bajos de Lp(a) (7 y 0 mg/dl).

Los pacientes con isoformas de gran tamaño mostraron un valor medio de Lp(a) de  $10,72 \pm 12,17$  mg/dl, mientras que en los que presentaban isoformas de pequeño tamaño el valor medio de Lp(a) fue de  $38,36 \pm 29,20$  mg/dl. Se aprecia una relación inversa entre el tamaño de la isoforma de apo(a) y la concentración sérica de Lp(a) ( $p = 0,013$ ).

Al analizar la frecuencia y el porcentaje de fenotipos de Lp(a) de tamaño grande y pequeño en pacientes con hiperlipoproteinemia(a) [Lp(a)  $> 30$  mg/dl], encontramos que predominan las isoformas de bajo peso molecular en los pacientes con Lp(a)  $> 30$  mg/dl (63,5%) y las de elevado peso molecular en los que presentan una Lp(a)  $< 30$  mg/dl (90,9%), y esta asociación es estadísticamente significativa ( $p = 0,0078$ ).

En la tabla 2 se recogen la frecuencia y el porcentaje de presentación de cada uno de los fenotipos encontrados. El fenotipo de apo(a) más frecuentemente encontrado en pacientes con SCA es el homocigoto S2 (36,4%), que corresponde a una isoforma de pequeño tamaño.

**Tabla 1. Fenotipos de apo(a) y concentraciones séricas de Lp(a) al ingreso y al mes de seguimiento (n = 22)**

Fenotipo	Valor de ingreso (mg/dl)	Valor al mes (mg/dl)
Nulo	5	11
	0	0
S4	10	0
	11	20
	0	5
S3S4	14	12
	39	32
	23	23
	0	44
S3	16	18
	0	0
S2	33	37
	7	0
	69	67
	34	84
	26	25
	31	-
	12	21
	0	6
S3B	86	109
	82	85
S2B	42	43

Fenotipos de tamaño grande: nulo, S4, S3S4, S3; fenotipos de tamaño pequeño: S2, S3B, S2B.

Analizando la frecuencia de presentación de los diferentes fenotipos de Lp(a), encontramos que en pacientes con SCA hay una frecuencia de fenotipos de tamaño grande y pequeño similares (50%).

En nuestra serie había 15 pacientes con fenotipo de Lp(a) homocigoto y 7 pacientes con fenotipo heterocigoto. La concentración media de Lp(a) en pacientes con fenotipo homocigoto fue de  $16,93 \pm 18,96$  mg/dl, y en los que presentaban un fenotipo heterocigoto, de  $40,85 \pm 32,77$  mg/dl. Existe una tendencia estadística muy fuerte, aunque no llega a ser significativa, a que los valores de Lp(a) sean menores en homocigotos que en heterocigotos ( $p = 0,0603$ ).

**Tabla 2. Frecuencia y porcentaje de presentación de cada uno de los fenotipos encontrados**

Fenotipo	Frecuencia (%)
Nulo	2 (9,1%)
S4	3 (13,6%)
S3S4	4 (18,2%)
S3	2 (9,1%)
S2	8 (36,4%)
S3B	2 (9,1%)
S2B	1 (4,5%)

## Discusión

La Lp(a) es un tipo de lipoproteína similar en estructura a la LDL, excepto porque contiene una apolipoproteína adicional, la apo(a), que está unida covalentemente a la apo B-100 de la LDL mediante un puente disulfuro.

La Lp(a) ha adquirido en los últimos años protagonismo como nuevo factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis. La asociación entre la concentración de Lp(a) y aterosclerosis se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios que muestran que las concentraciones de Lp(a) elevadas se asocian con un incremento del riesgo para la enfermedad coronaria<sup>11-14</sup>.

Apo(a) es una proteína hidrofílica, altamente glucosilada, con una considerable homología con el plasminógeno<sup>15</sup> y cuyo gen es adyacente al del plasminógeno en el cromosoma 6. La homología estructural entre la apo(a) y el plasminógeno ha hecho que se atribuyan propiedades trombogénicas a la Lp(a), debido a que produciría una reducción de la actividad fibrinolítica del plasma, y datos *in vitro* sugieren que la Lp(a) puede promover la trombosis<sup>16,17</sup>. Sin embargo, otros autores sostienen que la Lp(a) puede tanto favorecer como entorpecer la fibrinólisis natural<sup>18,19</sup>.

Estudios sobre la capacidad de isoformas de Lp(a) purificadas de inhibir la fibrinólisis en un sistema *in vitro* han revelado que pequeñas isoformas de Lp(a) ( $\leq 500$  kDa) son inhibidores eficaces de la activación del plasminógeno y unión con alta afinidad a la fibrina. Contrariamente, isoformas grandes ejercen un pequeño o nulo efecto inhibitorio en este sistema ( $> 500$  kDa)<sup>20</sup>.

Por otra parte, existe evidencia de que ciertas isoformas de apo(a) pueden ser más aterogénicas que otras, y en ratas transgénicas que expresan apo(a) se ha visto que está asociada a aterosclerosis acelerada.

Las distintas isoformas de apo(a) presentan diferente tamaño, con pesos moleculares comprendidos entre 280 y 800 kDa<sup>21</sup>. Se han identificado hasta el momento 37 isoformas de la apo(a) que difieren en su tamaño<sup>3</sup>. No obstante, si el polimorfismo de la apo(a) se combina con los datos de la secuencia del gen que codifica la apo(a) de que disponemos, cabe esperar la existencia de más de 100 alelos diferentes en el *locus* de la apo(a)<sup>22</sup>. Según los métodos utilizados para su separación, puede identificarse un número variable de isoformas. Con los métodos más habituales (como el utilizado por nosotros) pueden separarse 6 isoformas que reciben los nombres de S4, S3, S2, S1, B y F, de mayor a menor peso molecular.

Parece probado que las concentraciones en plasma de Lp(a) son un factor de riesgo para la enfermedad arterial coronaria prematura, aunque no está claro si los fenotipos de apo(a) desempeñan un papel adicional e independiente. Recientemente, estudios genéticos han sugerido que sólo ciertas isoformas de la apo(a), las de menor tamaño, guardan relación con la enfermedad coronaria y también con la afección arteriosclerótica extracoronaria. En nuestro trabajo, hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la concentración sérica de Lp(a) y el fenotipo de apo(a): las isoformas de pequeño tamaño se asocian significativamente con concentraciones de Lp(a) más elevadas, y viceversa; asimismo, en individuos con valores de Lp(a) superiores a 30 mg/dl predominan las isoformas de bajo peso molecular.

Por otra parte, en el trabajo de Pedro-Botet et al<sup>22</sup> se determina una frecuencia de fenotipos heterocigotos de la apo(a) superior a la referida en otras publicaciones (el 35,7 frente al 64,3% de homocigotos)<sup>23</sup> y, en concordancia con datos previos<sup>24</sup>, la concentración sérica de la Lp(a) fue mayor en los individuos heterocigotos que en los homocigotos. Nosotros encontramos un fenotipo heterocigoto en un porcentaje algo menor de pacientes (31,9% de los casos). En nuestro estudio existe una tendencia muy próxima a la significación estadística ( $p = 0,06$ ), en el sentido de que los valores de Lp(a) sean mayores en individuos con fenotipo heterocigoto que en los homocigotos. En un trabajo reciente del mismo grupo<sup>25</sup>, estos autores corroboran estos resultados al encontrar que pacientes con enfermedad coronaria prematura con fenotipo de doble banda tienen concentraciones plasmáticas de Lp(a) significativamente más elevadas que los que expresan un fenotipo de banda única (37 frente a 20 mg/dl;  $p = 0,018$ ), por lo que el fenotipo heterocigoto se asocia con un mayor riesgo cardiovascular.

Carmena et al<sup>26</sup>, en un grupo control sano, encuentran como fenotipo de la apo(a) más frecuente el S2 (22,9%) y el S4 (22,9%); en sujetos con hipercolesterolemia familiar, el fenotipo más frecuentemente encontrado fue el S4 (31%), significativamente más frecuente en estos pacientes que en sujetos sanos. El fenotipo más frecuente en nuestra serie de individuos con SCA es el S2 (36,4%).

Asimismo, si comparamos la frecuencia de presentación de los diferentes fenotipos de Lp(a) (S4, S3, S4S3 como de tamaño grande, y el resto como de tamaño pequeño), existe un claro predominio de fenotipos de pequeño tamaño en pacientes con SCA en comparación con la población sana.

Parlavecchia et al<sup>27</sup> han investigado el posible efecto del fenotipo de apo(a) en la enfermedad arterial coronaria prematura (< 55 años) y han estudiado a 96 pacientes no diabéticos con enfermedad arterial coronaria definida angiográficamente y 83 sujetos control sin evidencia angiográfica de enfermedad arterial coronaria. Los pacientes con enfermedad arterial coronaria prematura presentan concentraciones altas de Lp(a) ( $24 \pm 21$  frente a  $17 \pm 15$  mg/dl;  $p < 0,01$ ) y una mayor frecuencia de fenotipo S2 (32% frente al 15%;  $p < 0,01$ ). Los pacientes con un fenotipo S2 exhiben concentraciones de Lp(a) significativamente más elevadas que los sujetos control con la misma isoforma ( $37 \pm 22$  frente a  $22 \pm 17$  mg/dl;  $p < 0,05$ ). Los pacientes tienen una baja frecuencia de S1 y S4 y una alta frecuencia de fenotipos de doble-banda de apo(a).

Zhong et al estudian el fenotipo de apo(a) en la enfermedad cardiocerebrovascular (supervivientes de infarto agudo de miocardio y accidente cerebrovascular) y encuentran que la frecuencia de los fenotipos B, S1 y S2 en pacientes es marcadamente más alta que en controles dentro del mismo fenotipo de banda única de apo(a). Por otra parte, la concentración sérica de Lp(a) en enfermedad cardiocerebrovascular era significativamente más alta en los pacientes que en los controles dentro del mismo fenotipo de banda única de apo(a).

Los estudios anteriores avalan la hipótesis de que el fenotipo de apo(a) puede desempeñar un papel adicional en la etiología de la enfermedad arterial coronaria prematura.

Creemos que una importante limitación del presente trabajo es el escaso número de pacientes que dificulta la obtención de resultados significativos, así como la falta de un grupo control étnicamente similar a fin de conocer la prevalencia de fenotipos en la población estudiada. Con las limitaciones expuestas, nuestro trabajo sólo pretende describir los resultados obtenidos en una serie de pacientes consecutivos ingresados con SCA.

## Conclusiones

Nuestros datos apoyan la tesis de que las concentraciones plasmáticas de Lp(a) están determinadas genéticamente, dado que: *a)* los individuos con isoformas de pequeño tamaño tienen concentraciones mayores de Lp(a) que los que tienen isoformas de tamaño grande, y *b)* los individuos con fenotipos de Lp(a) heterocigoto tienden a presentar concentraciones más elevadas de Lp(a) que los que exhiben un fenotipo homocigoto.

El fenotipo de Lp(a) puede desempeñar un papel adicional en la etiología de la enfermedad arterial

coronaria. En nuestros pacientes con SCA encontramos: *a)* una frecuencia elevada de fenotipos de tamaño pequeño, y *b)* que la isoforma más prevalente es S2, que corresponde a una isoforma de pequeño tamaño.

Estos resultados, diferentes de los encontrados en estudios en la población general en nuestro medio, apoyan la hipótesis de que las isoformas de tamaño pequeño se asocian con un riesgo aumentado de presentar enfermedad arterial coronaria.

## Bibliografía

1. Utermann G. The mysteries of lipoprotein(a). *Science* 1989;246:904-10.
2. Utermann G, Menzel HJ, Kraft HG, Duba HC, Kemmler HG, Seiyz C. Lipoprotein(a) glycoprotein phenotypes. Inheritance and relation to Lp(a)-lipoprotein concentrations in plasma. *J Clin Invest* 1987;80:458-65.
3. Lackner C, Cohen JC, Hobbs H. Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein(a). *Hum Mol Gen* 1993;2:933-40.
4. Boerwinkle E, Menzel HJ, Kraft HG. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. *Hum Genet* 1989;82:73-8.
5. Utermann G, Duba C, Menzel HJ. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. II: Inheritance of Lp(a) glycoprotein phenotypes. *Hum Genet* 1988;78:47-50.
6. Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. *J Clin Invest* 1992;90:52-60.
7. Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, et al. Relation of serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) phenotype to coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990;322:1494-9.
8. Kark JD, Sandholzer C, Friedlander Y, Utermann G. Plasma Lp(a), apolipoprotein(a) isoforms and acute myocardial infarction in men and women: a case-control study in the Jerusalem population. *Atherosclerosis* 1993;98:139-51.
9. Gaubatz JW, Hoogeveen RC, Hoffman AS, Ghazizadeh KG, Pownall HJ, Guevara J Jr, et al. Isolation, quantitation, and characterization of stable complex formed by Lp(a) binding to triglyceride-rich lipoproteins. *J Lipid Res* 2001;42:2058-68.
10. Kostner GM, Avogaro P, Cazzolato G, Marth E, Bittolo-Bon G, Quinici GB. Lipoprotein Lp(a) and the risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1981;38:51-61.
11. Genest J Jr, Jenner JL, McNamara JR, Ordovas JM, Silberman SR, Wilson PWF, et al. Lipoprotein cholesterol, apolipoprotein A-I and B and lipoprotein(a) abnormalities in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:792-802.
12. Rhoads GC, Dahlen G, Berg K, Morton EN, Dannenberg AL. Lp(a) lipoprotein as a risk factor for myocardial infarction. *JAMA* 1986;256:2540-4.
13. Bihari-Varga M, Kostner G, Czimmer A. Lp(a) and the risk of coronary heart disease. *Eur J Epidemiol* 1992;8(Suppl 1):33-5.
14. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987;330:132-7.
15. Hajjar KA, Gavish D, Breslow JL, Nachman RL. Lipoprotein(a) modulation of endothelial cell surface fibrinolysis and its potential role in atherosclerosis. *Nature* 1989;339:303-5.
16. Miles LA, Fless GA, Levin FG, Scanu AM, Flow EF. A potential basis for the thrombotic risk associated with lipoprotein(a). *Nature* 1989;339:301-3.
17. Simon DI, Fless GM, Scanu AM. Tissue type plasminogen activator binds to and is inhibited by surface-bound Lp(a) and LDL. *Biochemistry* 1991;30:6671-7.

18. Edelberg JM, Reilly CF, Pizzo SV. The inhibition of tissue type plasminogen activator by plasminogen activator inhibitor-1. The effects of fibrinogen, heparin vitronectin and lipoprotein(a). *J Biol Chem* 1991;266:7488-93.
19. Chapman MJ, Huby T, Nigon F, Thillet J. Lipoprotein(a): implication in atherothrombosis. *Atherosclerosis* 1994;110:69-75.
20. Scanu AM, Fless GM. Lp(a) heterogeneity and biological relevance. *J Clin Invest* 1990;85:1709-15.
21. Cohen JC, Chiesa G, Hobbs HH. Sequence polymorphisms in the apolipoprotein(a) gene. Evidence for dissociation between apolipoprotein(a) size and plasma lipoprotein(a) levels. *J Clin Invest* 1993;91:1630-6.
22. Pedro-Botet J, Sentí M, Rubiés-Prat J, Auguet T, Marrugat J. Relación entre concentración sérica de lipoproteína(a), polimorfismo genético de la apolipoproteína(a) e historia familiar de arteriosclerosis. *Clin Invest Arterioscl* 1995;7:144-9.
23. Sandholzer C, Hallman DM, Saha M, Sigurdsson G, Lackner C, Csaszar A, et al. Effects of the apolipoprotein(a) size polymorphism on the lp(a) concentration in 7 ethnic groups. *Hum Genet* 1991;86:607-14.
24. Islam S, Gutin B, Smith C, Treiber F, Kamboh MI. Association of apolipoprotein(a) phenotypes in children with family history of premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1609-16.
25. Martín S, Pedro-Botet J, Joven J, Simó JM, Ladona MG, Pavesa M, et al. Heterozygous apolipoprotein(a) status and protein expression as a risk factor for premature coronary heart disease. *J Lab Clin Med* 2002;139:181-7.
26. Carmena R, Lussier-Cacan S, Roy M, Minnich A, Lirgenhel A, Kronenberg F, et al. Lp(a) levels and atherosclerotic vascular disease in a sample of patients with familial hypercholesterolemia sharing the same gene defect. *Arterioscler Thromb* 1996;16:129-36.
27. Parlavecchia M, Pancaldi A, Taramelli R, Valsania P, Galli L, Pozza G, et al. Evidence that apolipoprotein(a) phenotype is a risk factor for coronary artery disease in men < 55 years of age. *Am J Cardiol* 1994;74:346-51.