

Implicación de polimorfismos de apolipoproteína en la fisiopatología de la aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer

Implication of apolipoprotein e polymorphisms in the atherosclerosis and Alzheimer's disease physiopathology

97

Edgar Jonathan Narvárez López, MD^{1*}, <https://orcid.org/0000-0002-8660-132X>
 José Andrés Bravo Peláez, MD¹, <https://orcid.org/0000-0001-5902-2835>
 Karen Alexandra Almeida Lozano, MD¹, <https://orcid.org/0000-0001-8245-3238>
 Cristian Geovanny Alvarez Rivera, MD², <https://orcid.org/0000-0001-7687-5549>
 César Augusto Mendoza Argandoña, MD¹, <https://orcid.org/0000-0002-0120-7375>
 Alex Marcelo Morales Sánchez, MD³, <https://orcid.org/0000-0001-6936-9373>
 Digna Tatiana Godos Rivera, MD⁴, <https://orcid.org/0000-0002-1400-4104>
 Tatiana Elizabeth Del Salto Ocaña, MD¹, <https://orcid.org/0000-0002-8176-7750>
 María Magdalena Catota Camacho, MD⁵, <https://orcid.org/0000-0003-0274-2246>

¹Médico Residente. Ministerio de Salud Pública. Hospital de Especialidades Eugenio Espejo de Quito. República del Ecuador.

²Médico Residente. Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas N°1 de Quito. República del Ecuador.

³Médico Rural. Ministerio de Salud Pública. Hospital Básico San José de Taisha. República del Ecuador.

⁴Médico Residente. Centro Clínico Quirúrgico Ambulatorio Hospital del Día Cotacollao. República del Ecuador.

⁵Médico Residente. Ministerio de Salud Pública. Hospital General de Macas. República del Ecuador.

*Autor de correspondencia: Edgar Jonathan Narvárez López, MD. Ministerio de Salud Pública. Hospital de Especialidades Eugenio Espejo de Quito. República del Ecuador. Teléfono: 0995629505. Correo electrónico: jonathan_35_@hotmail.com

Resumen

La apolipoproteína E (Apo E) es una glicoproteína de 34 kDa y 299 aminoácidos que se encuentra formando parte de los quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL), mediante la captación de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos (TG) interviene en el transporte reverso del colesterol. De igual manera cumple funciones antiinflamatorias estimulando los fenotipos de macrófagos con estas propiedades asimismo se le han atribuido efectos inmunomoduladores, las complejas asociaciones existentes entre los genes de Apo E y los niveles de lípidos séricos sugiere que sus alelos contribuyen al riesgo genético para el desarrollo de enfermedad cardiovascular. De igual manera, se ha demostrado que la Apo E es un factor de riesgo para la aparición de la Enfermedad de Alzheimer, en individuos con un inicio especialmente tardío

de la enfermedad, ya que esta apolipoproteína es generada en diferentes grupos celulares del Sistema Nervioso Central llevando a cabo diversas funciones en numerosas vías fisiopatológicas especialmente ligadas al metabolismo del colesterol, incluso se han descubierto cambios estructurales directos en la Apo E o su receptor, alteraciones en la señalización neuronal y desequilibrio en la agregación y aclaramiento de beta amiloide, identificar los mecanismos implicados representan nuevas y prometedoras herramientas en el abordaje diagnóstico y terapéutico a través de esta molécula, considerando la importancia de los factores genéticos en la aparición de estas enfermedades y el papel que juega la Apo E en el metabolismo lipídico a nivel cardiovascular y cerebral.

Palabras clave: Apolipoproteína E, lípidos, enfermedad cardiovascular, neurodegeneración.

Apolipoprotein E (Apo E) is a 34 kDa, 299 amino acid glycoprotein structural component of chylomicrons, very low density lipoproteins (VLDL) and high density lipoproteins (HDL), through the uptake of lipoproteins rich in triacylglycerides (TG) plays a role in the reverse cholesterol transport. Similarly, it fulfills anti-inflammatory functions by stimulating the macrophage phenotypes with these properties, as well as immunodulatory effects. The complex associations between Apo E genes and serum lipids suggest that their alleles contribute to the genetic risk for development of cardiovascular disease. Likewise, it has been shown that Apo E is a risk factor for Alzheimer's disease, in individuals with a particularly late onset of the disease, since this apolipoprotein is generated in different cell groups of the Central Nervous System carrying out various functions in numerous physiopathological pathways especially linked to cholesterol metabolism, including direct structural changes in Apo E or its receptor, alterations in neuronal signaling and imbalance in the aggregation and clearance of beta amyloid, identifying the mechanisms involved represent new and promising tools in the diagnostic and therapeutic approach through this molecule, considering the importance of genetic factors in the appearance of these diseases and the role played by Apo E in lipid metabolism at cardiovascular and cerebral level.

Keywords: Apoprotein (E), lipids, cardiovascular disease, neurodegeneration.

La apolipoproteína E (Apo E) es una glicoproteína de 34 kDa y 299 aminoácidos que se encuentra formando parte de los quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL), con propiedades anfipáticas¹; cuyo gen codificante se encuentra en el cromosoma 19q13.2, presentando tres alelos comunes: apo E2, apo E3 y apo E4². La Apo E es sintetizada por un sin número de tejidos entre estos se encuentran el hígado, cerebro, tejido adiposo, macrófagos, entre otros³⁻⁵.

La Apo E juega un papel fundamental en el metabolismo lipídico, su función principal es ser el ligando de diferentes receptores, especialmente a nivel hepático. De igual manera se encuentra en los quilomicrones, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteínas de densidad intermedia, y en algunos de los subgrupos de las HDL⁶. Mediante la capta-

ción de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos (TG) interviene en el transporte reverso del colesterol facilitando su salida, regulando su absorción intestinal y su excreción a través de la bilis⁷. De igual manera cumple funciones antiinflamatorias estimulando los fenotipos de macrófagos con estas propiedades, asimismo se le han atribuido efectos inmunomoduladores⁸.

Los polimorfismos de la Apo E fueron inicialmente vinculados a anomalías metabólicas⁹, posteriormente nuevos estudios han revelado un potencial efecto de estas variaciones genotípicas sobre enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, siendo considerado el alelo E4 un importante factor de riesgo genético. Con respecto a su relación con la aterosclerosis, varios estudios han demostrado la asociación entre el genotipo Apo E y las enfermedades cardiovasculares, especialmente ligadas a funciones específicas de las isoformas¹⁰; por su parte el importante papel que juega la Apo E en la homeostasis cerebral se ha vinculado con la aparición de la Enfermedad de Alzheimer, especialmente la isoforma Apo E4¹¹. Por lo cual el objetivo de esta revisión es analizar los principales mecanismos etiopatogénicos que relacionan la Apo E con estas entidades clínicas.

Biología de apo E

Las lipoproteínas son estructuras esféricas que poseen en su core lípidos no polares, y en su parte externa una capa de fosfolípidos y apolipoproteínas, siendo la única porción proteica capaz de interactuar con colesterol, ésteres de colesterol, fosfolípidos y TG¹². Las apolipoproteínas están relacionadas por su alfa hélice anfipática, la cual brinda estabilización a la molécula, además las caras hidrófobas e hidrófilas de estas hélices permiten la interacción entre las apolipoproteínas¹³⁻¹⁵.

El gen de la Apo E se encuentra ubicado en el cromosoma 19q13.2, cercano al locus de la apo CII, apo CIII¹⁶; consta de tres alelos E2, E3 y E4 encargadas de codificar las isoformas respectivas, que difieren una de la otra solo en las posiciones de aminoácidos 112 y/o 158. La isoforma E2 tiene residuos de cisteína en ambos sitios, la isoforma E3 contiene un residuo de cisteína en la posición 112 y arginina en la posición 158 y la isoforma E4 contiene arginina en ambas posiciones⁹. Estos cambios en los residuos confieren modificaciones estructurales en las diversas isoformas, comportándose de manera diferente en la afinidad por sus receptores, la Apo E4 por su residuo de arginina en la posición 112 tiene mayor afinidad por las lipoproteínas ricas en TG, entre estas las VLDL¹⁷, esta preferencia de Apo E4 por las partículas de VLDL y remanentes de quilomicrones, se ha asociado a un aumento de las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) en plasma⁹.

La Apo E participa en la depuración hepática de remanentes de quilomicrones, influye en el transporte reverso del colesterol, juega un doble papel en el aclaramiento del exceso de colesterol sérico y también puede unirse a la proteína del receptor de LDL (LRP), receptor de VLDL, heparina y proteoglicanos^{18,19}.

Papel de los polimorfismos de apo E sobre los lípidos

Los niveles de colesterol sérico son regulados por diversos factores, entre estos el consumo de grasas de la dieta y la producción de colesterol endógeno²⁰. Diversos estudios han reportado que en aquellos individuos con el genotipo E4, existe un aumento importante en la capacidad de absorción intestinal del colesterol, en contraste con aquellos homocigotos o heterocigotos para el alelo E2 en quienes se observó una disminución de la eficacia de la absorción intestinal (21). Asimismo se ha reportado la importancia de la Apo E en la captación de colesterol desde los macrófagos facilitando la expansión del núcleo de ésteres de colesterol de HDL²².

En los genotipos homocigotos E2 existe una disminución de los niveles de colesterol contenido en los hepatocitos y un incremento de los receptores de LDL por una regulación positiva, originando un aumento del catabolismo de las LDL séricas y por ende disminuyendo el nivel del colesterol unido a LDL, esto se traduce en una baja concentración de LDL y colesterol total y alta concentración de TG^{23,24}. Las complejas asociaciones existentes entre los genes de Apo E y los niveles de lípidos sugieren que sus alelos contribuyen al riesgo genético para el desarrollo de enfermedad cardiovascular²⁵.

Asociación entre polimorfismos de Apo E y enfermedad cardiovascular

La enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte a nivel mundial, causando casi 17,7 millones de muertes en el 2015, de los cuales 7,4 millones se atribuyeron a la cardiopatía isquémica y 6,7 millones a los accidentes cerebrovasculares²⁶, datos totalmente alarmantes por lo cual, el estudio de los factores de riesgo cardiovascular es un campo de amplio estudio en el área de la epidemiología durante las últimas décadas, siendo los más importantes el consumo habitual de cigarrillo, obesidad, sedentarismo, colesterol LDL elevado y HDL bajas, la historia familiar de alguna enfermedad cardíaca prematura²⁷, este último íntimamente asociado a la esfera genética la cual permitiría un abordaje más temprano de este grupo de enfermedades.

Actualmente el polimorfismo de la Apo E ha sido ampliamente estudiado en diferentes poblaciones, en varias los sujetos homocigotos o heterocigotos para el alelo E4 han mostrado una mayor frecuencia de enfermedades cardiovasculares, mientras que otros investigadores no han demostrado dicha asociación²⁸. Esta discrepancia es la razón por la cual los polimorfismos no han sido considerados como factores de riesgo cardiovascular independientes en los grandes reportes de salud cardiovascular a nivel mundial²⁹.

Como se ha mencionado previamente, el polimorfismo de Apo E4 es el más asociado a enfermedad cardiovascular tal como lo expone Peña et al.³⁰, en un análisis realizado en España, el cual concluyó que el 15,7% de los sujetos con enfermedad cardiovascular establecida tenía el alelo E4. Por su parte, Bennet et al., en un metaanálisis de

reportes sobre lípidos y enfermedad cardiovascular, concluyen que los genotipos para Apo E4 se asocian con los valores de LDL y a un mayor riesgo coronario, a diferencia de lo expuesto para aquellos sujetos con el genotipo E2, quienes tienen un de riesgo de presentar alguna enfermedad coronaria 20% menor^{31,32}.

Por su parte, Ward et al., evaluaron la relación entre los genotipos de Apo E y el riesgo de enfermedad arterial coronaria en 10.033 hombres y 12.134 mujeres con edades comprendidas entre los 44 a 79 años, pertenecientes al Norfolk, England arm of the European prospective into Nutrition and Cancer Study, quienes concluyeron que no evidenciaron una relación entre los polimorfismos de apo E y el riesgo de enfermedad coronaria tras el ajuste por varios factores de riesgo cardiovascular³³. Estas diferencias en los diversos reportes pueden estar asociadas a una baja frecuencia en los alelos, pobre poder estadístico, tipos de enfermedad cardiovascular, tal como lo plantea Yousuf et al., en una revisión realizada en poblaciones asiáticas donde sí se evidencia una relación con la enfermedad arterial coronaria³⁴.

Papel de la apo E en macrófagos y enfermedad cardiovascular

Diversos estudios han relacionado la Apo E sintetizada en macrófagos con propiedades antiinflamatorias³⁵, lo cual ha llevado a la investigación de las vías de señalización encargadas de estos mecanismos, un análisis realizado por Kockx et al., determinó que estas vías dependen de la activación de la Protein Kinasa A (PKA) dependiendo además del calcio a lo largo de la red de microtúbulos intracelulares³⁶.

Asimismo, se ha demostrado la influencia de la Apo E en la inmunomodulación de los macrófagos específicamente en su polarización funcional, al demostrarse que la exposición a Apo E por macrófagos que expresan su receptor conlleva a la expresión/liberación de varios marcadores entre estos: Arg-1, Fizz1/Relm, SOCS3, IL-1RA, que son generados por el fenotipo M2³⁵.

Por su parte, Tennert et al. en un estudio realizado en ratones, muestran por primera vez que la sobreexpresión de Apo E sobre macrófagos específicos genéticamente poseen propiedades anti-aterogénicas en modelos murinos transgénicos sin receptor de LDL, este hallazgo sugiere que la apo E adicionada podría tener propiedades ateroprotectoras, siendo una potencial diana terapéutica³².

Apo E y Músculo liso

Las células musculares lisas de la pared vascular contribuyen en el proceso de aterogénesis y reestenosis postangioplastia, se ha determinado que la Apo E puede inhibir su migración y proliferación, en estudios in vitro el factor de crecimiento derivado de las plaquetas promueve la migración del músculo liso, la Apo E es capaz de inhibir este proceso mediante la inducción de la expresión del gen iNOS y la formación de óxido nítrico (ON), lo cual disminuye la expresión de la ciclina D1 estimulada por el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, y de esta manera

inhibe su ciclo celular³⁷. Asimismo, se ha demostrado en modelos in vitro que la formación de la neointima a nivel de la arteria femoral depende de los valores de Apo E, mientras estos niveles sean bajos la formación tisular estará inhibida. De esta manera se estimula la expresión de los genes de Cox-2, generando un aumento en la producción de la prostaciclina, y disminución del gen de ciclina A³⁸.

Apo E y Sistema Nervioso Central

El metabolismo del colesterol a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC) está sumamente regulado durante el desarrollo, al igual que en aquellos momentos en los cuales debe reponerse rápidamente de lesiones o patologías, el cerebro esta principalmente compuesto por grasa y el 25% del total del colesterol corporal está ubicado en el mismo³⁹, lo cual merece un delicado control metabólico de este compuesto para que las funciones cerebrales ocurran de manera normal⁴⁰.

En el SNC el 99,5% del colesterol es no esterificado, diversos estudios han planteado que el colesterol a este nivel se encuentra principalmente en las vainas de mielina y en las membranas plasmáticas (la mielina está representada por un 70% de lípidos y 30% de proteínas). Durante el periodo embrionario y el postnatal temprano, el sistema nervioso sufre una expansión celular, lo cual hace al colesterol un metabolito esencial durante este periodo⁴¹.

En el SNC, los astrocitos son las principales células responsables de la producción de Apo E, incluso en astrocitos especializados (glía de Bergmann del cerebelo, tanicitos del tercer ventrículo, pituiticos, células de Muller de la retina); la Apo E generada en diferentes grupos celulares podría tener diversas funciones en numerosas vías fisiopatológicas⁴².

Asociación entre Apo E y Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa, considerada la sexta causa directa de muerte en los Estados Unidos, y la quinta causa directa en las personas mayores de 65 años; para el 2010 se estimó que en este país 5,4 millones de personas padecían la enfermedad, sobre la base de estas cifras se ha proyectado que el número de personas con demencia alcanzará 65,7 millones para el 2030 y 115.4 millones para el 2050⁴³.

Esta enfermedad incluye entre sus principales síntomas y signos de pérdida progresiva de la capacidad cognitiva, demencia, la presencia de placas amiloides extracelulares y formaciones neurofibrósas intracelulares. Numerosos estudios han demostrado que la Apo E es un factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad, en individuos con un inicio especialmente tardío de la enfermedad, así como en aquellos casos familiares o esporádicos^{44,45}.

Seis genotipos diferentes se pueden distinguir entre homocigotos y heterocigotos, de los cuales la variante más común es E3, mientras que E2 y E4 han sido observados con menor frecuencia^{46,47}. Un metanálisis de autopsias clínicas demostró que a diferencia de los individuos con un genotipo E3/E4, el riesgo de EA aumento en los sujetos con una copia del alelo E4 (E2/E4: OR=2.6); (E3/E4:

OR=3.2) sin embargo al tener dos copias E4/E4 el riesgo aumenta de manera considerable (OR=14.9)⁴⁸. No obstante, en un análisis reciente realizado en sujetos blancos no hispánicos, no se evidenciaron diferencias significativas entre el genotipo E3/E4 vs E4/E4 en ambos sexos con edades entre 55 y 85 años⁴⁹.

Teorías moleculares entre Apo E y Enfermedad de Alzheimer

Cambio estructural de Apo E

Se han planteado diversas teorías para describir el papel patógeno que juega la Apo E en el desarrollo de la EA, el alelo E4 es capaz de promover interacciones entre los dominios a través de una orientación alterada del residuo Arg61 en el dominio N-terminal y del residuo Arg112 el cual puede interactuar con el Glu255 en el dominio C-terminal, condicionando cambios estructurales en la Apo E que conllevan a muerte neuronal y neurodegeneración⁵⁰.

Receptores asociados a Apo E

Varios análisis han reportado que los receptores de Apo E tienen efecto sobre la longevidad neuronal, en este sentido la reelina es una proteína de gran tamaño y que controla capas corticales a través de la señalización del receptor de LDL y el de Apo E2, de esta manera induce la fosforilación de la proteína Disabled-1 y la fosforilación de la proteína tau in vivo. La unión de reelina a estos receptores activa la fosfatidilinositol 3-quinasa, y por ende a la protein kinasa B, inhibiendo a la glucógeno sintasa 3 beta, existiendo evidencia de que toda esta cascada depende del receptor 2 de Apo E, LDL-R y Dab1. Todos estos efectos generan un desarrollo axonal, lo cual al existir polimorfismos podrían generar deterioro de las conexiones interneuronales⁵¹.

Apo E y señalización neuronal

Los receptores de Apo E median una cascada de señalización celular, gracias a las subunidades de su estructura, una de las vías más estudiadas es la que involucra a la proteína reelina mediada por Apo E 2, esta vía ha sido relacionada con la migración neuronal, plasticidad sináptica y el desarrollo dendrítico, a nivel neuronal los receptores afectan las vías de señalización de diferentes maneras⁵². Por su parte, Apo E4 aumenta los niveles de calcio basal, la respuesta del calcio al N-metil-D-aspartato y el fenómeno de neurotoxicidad, todos estos efectos dependientes del LRP1, efectos que no se evidencian con Apo E3⁵³.

Apo E en la agregación y aclaramiento de beta amiloide

El desequilibrio en el aclaramiento de beta amiloide, se ha considerado como el factor etiopatogénico principal en la fisiopatología de la EA, existen diversas vías de señalización por las cuales ocurre este proceso, la más importante mediada por diversos receptores a nivel del parénquima cerebral y a lo largo del fluido intersticial, la vía del drenaje a través de la barrera hematoencefálica y la vía de la degradación proteolítica endopeptidasa. Parte del aclaramiento mediado por los receptores de beta amiloide en el cerebro, se dan mediante los receptores LRP1, LDLR y VLDLR, los cuales se expresan especialmente en neuronas,

astrocitos y microglia así como en las células endoteliales y el músculo liso de los vasos sanguíneos cerebrales⁵⁴.

La Apo E y LRP1 se han encontrado presentes en las placas beta amiloideas, estos receptores pueden unirse de manera directa al beta amiloide o a través de chaperonas, sin embargo existe evidencia que sugiere que en el cerebro con EA, la Apo E interactúa directamente con el beta amiloide, al existir esta interacción se ve afectada su función de transporte lipídico^{55,56}.

Importancia en genovigilancia

Encontrar los posibles genes implicados en la aparición y progresión de la EA es un paso fundamental en el diagnóstico molecular, mediante pruebas genéticas se podrían dilucidar mecanismos aun no precisados en el proceso de neurodegeneración. De esta manera, las pruebas genéticas en los familiares de pacientes cuyo mecanismo etiológico implicado esté relacionado a Apo E, podrían ser una estrategia para predecir el riesgo de aparición de la enfermedad en el futuro, evaluando su aplicabilidad en pacientes seleccionados. Asimismo, el análisis genético podría mejorar el diagnóstico diferencial de las enfermedades neurodegenerativas⁵⁷.

Conclusiones

E

n esta revisión se resumen los fenómenos biológicos, clínicos y epidemiológicos, que engloban los diferentes polimorfismos de Apo E con la enfermedad cardiovascular y enfermedad neurodegenerativa que conducen a mayor morbi-mortalidad en adultos mayores, conocer los mecanismos implicados representan nuevas y prometedoras herramientas de abordaje diagnóstico y terapéutico a través de esta molécula, considerando la importancia de los factores genéticos en la aparición de estas enfermedades y el papel que juega la Apo E en el metabolismo lipídico a nivel cardiovascular y cerebral.

Referencias

- Hatters DM, Peters-Libeu CA, Weisgraber KH. Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends Biochem Sci.* 2006;31(8):445-54.
- Getz GS, Reardon CA. Apoprotein E as a lipid transport and signaling protein in the blood, liver, and artery wall. *J Lipid Res.* 2009;50 Suppl:S156-61.
- Chappell DA, Medh JD. Receptor-mediated mechanisms of lipoprotein remnant catabolism. *Prog Lipid Res.* 1998;37(6):393-422.
- Ginsberg HN. Lipoprotein physiology. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998; 27(3):503-19.
- Mahley RW, Huang Y, Rall SC Jr. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res.* 1999; 40(11):1933-49.
- Callas N, Poveda E, Baracaldo C, Hernández P, Castillo C, Guerra M. Polimorfismo genético de la apolipoproteína E en un grupo de escolares del centro-oriente colombiano: comparación con las concentraciones plasmáticas de lípidos y apolipoproteínas. *Biomédica.* 2007;27(4):526-36.
- Mahley RW. Putting cholesterol in its place: apoE and reverse cholesterol transport. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1226-9.
- Giordano S, Datta G, Varambally S, Anantharamaiah GM, Roger White C. Anti-Inflammatory Effects of Apolipoprotein E Mimetics Peptides in THP-1 Human Macrophages. *Free Radical Biology and Medicine.* 2016;100:556.
- Hauser PS, Narayanaswami V, Ryan RO. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. *Prog Lipid Res.* 2011;50(1):62-74.
- Sofat R, Cooper JA, Kumari M, Casas JP, Mitchell JP, Acharya J, et al. Circulating Apolipoprotein E Concentration and Cardiovascular Disease Risk: Meta-analysis of Results from Three Studies. *PLoS Med.* 2016;13(10):e1002146.
- Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol.* 2013; 9(2):106-18.
- Chetty PS, Mayne L, Lund-Katz S, Englander SW, Phillips MC. Helical structure, stability, and dynamics in human apolipoprotein E3 and E4 by hydrogen exchange and mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017; 114(5): 968-973.
- Segrest JP, Jones MK, De Loof H, Brouillette CG, Venkatachalapathi YV, Anantharamaiah GM. The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function. *J Lipid Res* 1992; 33(2):141-66.
- Mahley RW. Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 29;240(4852):622-30.
- Driscoll DM, Getz GS. Extrahepatic synthesis of apolipoprotein E. *J Lipid Res.* 1984; 25(12):1368-79.
- Scott J, Knott TJ, Shaw DJ, Brook JD. Localisation of genes encoding apolipoprotein C I, C II, and E to the P->Cen region of human chromosome. *Hum Genet* 1985; 71(2): 144-6.
- Anoop S, Misra A, Meena K, Luthra K. Apolipoprotein E polymorphism in cerebrovascular & coronary heart diseases. *Indian J Med Res.* 2010;132: 363-78.
- Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, et al. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2002; 155(6):487-95.
- Grocott HP, Newman MF, El-Moalem H, Bainbridge D, Butler, BAA, Las-kowitz DT, et al. Apolipoprotein E genotype differentially influences the proinflammatory and anti-inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *J Thoracic Cardio Vasc Surg* 2001; 122 (3): 622-3.
- Hegsted DM, Ausman LM, Johnson JA, Dallal GE. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. *Am J Clin Nutr* 1993; 57 (6): 875-83.
- Kesäniemi YA, Ehnholm C, Miettinen TA. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apolipoprotein E phenotype. *J Clin Invest* 1987; 80(2):578-81.
- Ostos MA, Lopez-Miranda J, Marin C, Castro P, Gomez P, Paz E, et al. The apolipoprotein A-IV-360 His polymorphism determines the dietary fat clearance in normal subjects. *Atherosclerosis* 2000; 153 (1): 209-17.
- Kawashiri M, Zhang Y, Usher D, Reilly M, Puré E, Rader DJ. Effects of coexpression of the LDL receptor and apoE on cholesterol metabolism and atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Lipid Res.* 2001;42(6):943-50.

24. Ehnholm C, Mahley RW, Chappell DA, Weisgraber KH, Ludwig E, Witztum JL. Role of apolipoprotein in lipolytic conversion of β very low density lipoproteins to low density lipoproteins in type III hypolipoproteinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(17):5566-70.
25. Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J* 1987; 113(2 Pt 2):433-40.
26. WHO. Cardiovascular diseases (CVDs). Fact Sheet. May 2017. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
27. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(10):e146-e603.
28. Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, Savolainen M, Klausen IC, Hansen PS, et al. The apolipoprotein epsilon4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction: a substudy of the Scandinavian simvastatin survival study. *Circulation*. 28 de marzo de 2000;101(12):1366-71.
29. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 24 de junio de 2014;129(25 suppl 2):S1-45.
30. Peña R, Mostaza JM, Lahoz C, Jiménez J, Subirats E, Pinto X, et al. Polimorfismo de la apolipoproteína E y enfermedad coronaria. *Med Clin (Barc)* 2001; 116(18): 681-685.
31. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA*. 2007;298(11):1300-11.
32. Tennert C, Teupser D, Mueller MA, Wilfert W, Renner-Müller I, Stein O, et al. Effect of macrophage ApoE on atherosclerosis in LDL-receptor deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;361(3):574-9.
33. Ward H, Mitrou PN, Bowman R, et al. APOE genotype, lipids, and coronary heart disease risk: a prospective population study. *Arch Intern Med*. 2009;169(15):1424-9.
34. Yousuf FA, Iqbal MP. Review: Apolipoprotein E (Apo E) gene polymorphism and coronary heart disease in Asian populations. *Pak J Pharm Sci*. 2015;28(4):1439-44.
35. Baitsch D, Bock HH, Engel T, Telgmann R, Müller-Tidow C, Varga G, et al. Apolipoprotein e (apoE) induces anti inflammatory phenotype in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):1160-8.
36. Kockx M, Guo DL, Huby T, Lesnik P, Kay J, Sabaretnam T, et al. Secretion of apolipoprotein E from macrophages occurs via a protein kinase A and calcium-dependent pathway along the microtubule network. *Circ Res*. 2007;101(6):607-16.
37. Raffai RL, Loeb SM, Weisgraber KH. Apolipoprotein E promotes the regression of atherosclerosis independently of lowering plasma cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(2):436-41.
38. Wientgen H, Thorngate FE, Omerhodzic S, Rolnitzky L, Fallon JT, Williams DL, et al. Subphysiologic apolipoprotein E (ApoE) plasma levels inhibit neointimal formation after arterial injury in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(8):1460-5.
39. Dietschy JM. Central nervous system: cholesterol turnover, brain development and neurodegeneration. *Biol. Chem*. 2009; 390(4):287-93.
40. Dietschy JM, Turley SD. Cholesterol metabolism in the brain. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12(2):105-12.
41. Dietschy JM. Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *J Lipid Res*. 2004;45(8):1375-97.
42. Huang Y, Mahley RW. Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis*. 2014;72 Pt A:3-12.
43. Tejada-Vera B. Mortality from Alzheimer's disease in the United States: data for 2000 and 2010. *NCHS Data Brief*. 2013;(116):1-8.
44. von Bernhardi R. Neurobiological mechanisms of Alzheimer's disease. *Rev. Chil. Neuro-Psiquiat* 2005; 43(2):123-132.
45. Rihn BH, Berrahmoune S, Jouma M, Chamaa S, Marcocci L, Le Faou A. APOE genotyping: comparison of three methods. *Clin Exp Med*. 2009;9(1):61-65.
46. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(5):333-344.
47. Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2009; 41 (10):1094-9.
48. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: A meta-analysis. *JAMA*. 1997;278(16):1349-56.
49. Neu SC, Pa J, Kukull W, Beekly D, Kuzma A, Gangadharan P, et al. Apolipoprotein E Genotype and Sex Risk Factors for Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2017;74(10):1178-1189.
50. Frieden C, Garai K. Structural differences between apoE3 and apoE4 may be useful in developing therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109(23): 8913-8918.
51. Beffert U, Morfini G, Bock HH, Reyna H, Brady ST, Herz J. Reelin-mediated signaling locally regulates protein kinase B/Akt and glycogen synthase kinase 3beta. *J Biol Chem*. 2002;277(51):49958-64.
52. Herz J, Chen Y. Reelin, lipoprotein receptors and synaptic plasticity. *Nat. Rev. Neurosci* 2006; 7(11):850-9.
53. Qiu Z, Crutcher KA, Hyman BT, Rebeck GW. ApoE isoforms affect neuronal N-methyl-D-aspartate calcium responses and toxicity via receptor-mediated processes. *Neuroscience* 2003; 122(2):291-303.
54. Ye S, Huang Y, Müllendorff K, Dong L, Giedt G, Meng EC, et al. Apolipoprotein (apo) E4 enhances amyloid beta peptide production in cultured neuronal cells: apoE structure as a potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(51):18700-5.
55. Tamamizu-Kato S1, Cohen JK, Drake CB, Kosaraju MG, Drury J, Narayanaswami V. Interaction with amyloid beta peptide compromises the lipid binding function of apolipoprotein E. *Biochemistry* 2008;47(18):5225-34.
56. Lane-Donovan C, Philips GT, Herz J. More than cholesterol transporters: lipoprotein receptors in CNS function and neurodegeneration. *Neuron*. 2014;83(4):771-87.
57. Bagyinszky E, Youn YC, An SS, Kim S. The genetics of Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging*. 2014;9:535-51.