

Apoproteínas A1 y B: valores de referencia para la población de Manizales

Alvaro Vargas Vélez, Jorge Raad Aljure, Dora Cardona de Ocampo, Dora Inés Molina de Salazar

Se determinaron los valores de referencia de apoproteínas A1 (apo A1) y B (apo B) para la población de Manizales. Para tal efecto fue realizado un muestreo estratificado proporcional de conglomerados. Sobre un total de 186 pacientes se realizaron cuantificaciones de lípidos séricos y apo A1 y B, y se calcularon los promedios poblacionales mediante un análisis de distribución 2 paramétrica log-normal. Sobre los datos obtenidos se calcularon los coeficientes de correlación (r), significancia estadística de tales coeficientes y análisis de regresión de los valores de apoproteínas con los lípidos séricos, edad y sexo.

Los resultados obtenidos muestran diferencias en los niveles de apoproteínas por grupos de edad observándose valores inferiores de apo A1 y B en el grupo de personas de 15 a 24 años. Los valores de apo A1 se incrementan hasta los 44 años en los hombres y van disminuyendo paulatinamente; en las mujeres el incremento se presenta hasta los 59 años y disminuye ligeramente después de los 60 años. Respecto a los valores de apo B se observa el mismo comportamiento. Sin embargo, la correlación apo A1 y B con edad es muy baja. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de apo A1 y B por grupos de edad y según el sexo.

Realizadas las correlaciones con los diferentes lípidos séricos los valores más altos observa-

dos fueron apo A1 con C-HDL (0.38) y de apo B con colesterol total (0.45), con C-LDL (0.34). La significancia de estas correlaciones es de $P < 0.001$.

Los valores de referencia obtenidos en este estudio son significativamente inferiores a los reportados en la literatura. Tales variaciones refuerzan la importancia de determinar valores de referencia que sean aplicables a la población objeto de atención en salud, dada la influencia de factores étnicos, ambientales, geográficos y nutricionales en los diferentes grupos poblacionales.

INTRODUCCION

Es función del laboratorio de química clínica la selección, ejecución y evaluación de pruebas cualitativas, semicuantitativas y cuantitativas de un sinnúmero de especímenes biológicos. Dentro de este rango de pruebas, las mediciones practicadas en el laboratorio proveen información clínicamente útil para el diagnóstico y control de diversas alteraciones que afectan al individuo e igualmente permiten la evaluación de factores riesgo, y son aplicables en estudios forenses y con fines científicos.

Por su amplísima aplicación y puesto que la química clínica constituye apoyo decisivo en el manejo de los pacientes, es de capital importancia que los valores informados por el laboratorio sean correctos y por tanto se deben tener en mente los factores que afectan dichos resultados, entre los cuales se pueden encontrar tres grupos principales (1).

1. Los relacionados con la preparación del paciente, obtención de la muestra, procesamiento

Dr. Alvaro Vargas Velez, Profesor de Cardiología, Universidad de Caldas; Dr. Jorge Raad Aljure, Profesor de Patología Clínica, Universidad de Caldas; Lic. Dora Cardona de Ocampo, Profesora de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad Autónoma de Manizales; Dra. Dora Inés Molina de Salazar, Profesora de Medicina Interna, Universidad de Caldas, Manizales.

Solicitud de separatas al Dr. Vargas.

y almacenamiento, que corresponden a la denominada fase preinstrumental.

2. Los relacionados con la disposición de muestras, metodologías de pruebas, pruebas de exactitud y precisión.

3. Por último, la evaluación del resultado en el cual se tendrá en cuenta lo referente a control de calidad y la remisión del informe al profesional que lo solicita.

Posteriormente tiene lugar el análisis de dicho resultado frente al estado clínico o historia del paciente, el facultativo toma la decisión basado parcialmente en tal resultado.

Dentro de la fase preinstrumental se sabe en forma más o menos consistente que el ejercicio (2), ayuno (3), dieta (4), ingestión de alcohol (5), hábito de fumar (6), drogas (1), posición (7), torniquete (8) y estrés (9) influyen notoriamente en los resultados. Igualmente en la toma de la muestra: el sitio de punción (10), material empleado para la recolección (11), interferencia por drogas, evaporación y estabilidad de los componentes (1) inhabilitan la muestra en cuestión para proveer la información que se espera.

A todas estas fuentes de error de índole analítico, sumaremos las relacionadas con el hecho de que la decisión final sobre la existencia o no de equilibrio de un analito en un individuo particular, se realiza con base en la comparación del valor obtenido, con lo admitido como normal para el método aplicado. Y es en relación a lo definido como normal que existe gran confusión, por lo cual expondremos algunos de los tópicos que se han discutido en la Federación Internacional de Química Clínica: Estos aspectos dignos de tener en cuenta son: 1. Aceptaciones del término normal. 2. Variaciones de lo normal. 3. Valores o intervalo de referencia.

Respecto al término normal, aunque en medicina se definirá como ausencia de enfermedad, se debe tener en cuenta que la salud es relativa, puede ser evaluada de diferentes maneras, y parece que cualquier persona puede tener algún problema. Tal es por ejemplo el caso de un individuo que tenga limitaciones auditivas o visuales.

Además de la relatividad existente en el estado

normal asignado a ausencia de enfermedad, la ambigüedad del término ha sido mencionada por Murphy (12), teniendo en cuenta sus múltiples acepciones: a) una distribución de probabilidad en forma de campana; b) el valor más representativo definido por una media; c) los valores más comunes encontrados en el laboratorio; d) los valores más apropiados para la supervivencia; e) el valor que definen los expertos; f) los valores que se consideren ideales.

Uno de los principales problemas en relación con la acepción radica además de la definición del estado normal en un individuo, en la consideración estadística que asume que los valores de los analitos siempre han de tener una distribución gaussiana, y a menudo dichos resultados no presentan esta distribución (13). Además, de acuerdo a lo supuestamente definido como normal, muchos resultados de laboratorio no anuncian ni estado de enfermedad ni riesgo para la salud, ya que en las valoraciones de los resultados no se han considerado la multiplicidad de condiciones que los afectan y que complican la evaluación de un paciente, por ejemplo condiciones:

1. Genéticas, raciales, étnicas.

2. Fisiológicas: edad, sexo, complexión corporal, ubicación geográfica, estrés (12), embarazo (14), variación diurna (15).

3. Tipo de dieta (16).

4. Actividad física (17).

5. Estado endocrino (17).

Respecto a estas influencias existen un sinnúmero de estudios que han proporcionado información de gran interés, nos referiremos a algunos relacionados con los lípidos, y apolipoproteínas objeto de este trabajo.

Si bien no se ha establecido exactamente la intervención de los factores genéticos y ambientales en la distribución de valores de colesterol y triglicéridos, los estudios realizados en familias y en gemelos indican que las influencias genéticas son responsables de un gran porcentaje de la variabilidad total (18-20). Igualmente en relación a diferentes poblaciones, se ha destacado la diferencia entre norteamericanos y japoneses (21), la distribución de los valores de colesterol entre

indios Pimas y caucásicos (22), y la diferencia entre esquimales y otros grupos.

En cuanto a la diferencia de valores observada entre japoneses y norteamericanos, se ha observado que al emigrarlos primeros a Estados Unidos adquieren las costumbres alimentarias de este país, y aumentan los valores de colesterol al ser comparados con sus congéneres residentes en el Japón, lo cual indica la influencia de los patrones culturales en el aspecto de la nutrición y la variabilidad en los lípidos en las diferentes poblaciones (18). Apoyando la influencia del tipo de dieta, recientemente L. Connor y col. (23) han valorado el potencial hipercolesteremiante aterogénico de un alimento, dependiendo de su contenido de colesterol y grasa saturada. De otra parte el excesivo consumo de alimentos (24, 26) acompañado de aumento del peso conduce a una hipertrigliceridemia a través del aumento de las lipoproteínas de baja densidad y la reducción de peso produce cambios incrementando particularmente las HDL (26, 27).

Dentro de las drogas, las hormonas sexuales (28) (anticonceptivos orales, terapia estrogénica), son las que más influyen sobre los valores de los lípidos séricos. Se ha demostrado en varias poblaciones americanas, que el incremento plasmático de colesterol y triglicéridos es 48% mayor en mujeres que utilizan dicha terapia y cuya edad es inferior a 40 años, al ser comparadas con el grupo de pacientes de este mismo grupo de edad que no hace uso de esta medicación. En las mujeres postmenopáusicas por el contrario la reposición de estrógenos conduce a una disminución plasmática del colesterol; no obstante Farish (29) observó aumento de LDL y disminución de los valores de triglicéridos, VLDL, colesterol total y HDL con noerthisterone en mujeres menopáusicas.

Con relación a la edad, la concentración sérica de colesterol comienza con un nivel cercano a 65 mg/dL al nacer y aumenta con el transcurso del tiempo hasta estabilizarse entre los 50 o 60 años (30).

Igualmente el estudio de Framingham (31) muestra que la mayoría de los hombres entre 55 y

65 años presenta valores de colesterol superiores a los de 35 a 44 años.

Los niveles de colesterol en los varones son más altos que en las mujeres premenopáusicas, pero estas concentraciones aumentan después de la menopausia, hasta llegar a ser incluso superior a las del hombre (17).

La actividad física (32-38), también objeto de numerosos estudios, ha demostrado tener efecto negativo sobre las concentraciones de colesterol total y triglicéridos y positivo sobre el colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad.

Igualmente los hábitos, especialmente el tabaquismo y el alcoholismo (5), afectan los valores séricos de los lípidos circulantes.

Finalmente y dado que estos aspectos son ampliamente conocidos, se debe tener en cuenta el efecto de las hormonas, bien sea como trastornos endocrinos o las circunstancias en las cuales se utilizan como terapia sustitutiva. La hormona tiroidea, el glucagón y la hormona del crecimiento, disminuyen los niveles de lípidos y la diabetes mellitus (39), la disfunción tiroidea (40, 41), la enfermedad hepática obstructiva (42), las disgamaglobulinemias (32), el síndrome nefrótico (32) y, recientemente involucrada, la lepra (43) influyen en las concentraciones de lípidos y lipoproteínas.

Actualmente se considera de gran importancia el papel desempeñado por las apolipoproteínas en la síntesis y catabolismo de las lipoproteínas. La Apo AI activa la lecitina colesterol acil transferasa (LCAT), las apo CII y CIII regulan la lipoproteinlipasa y la apo B100, B48 y E controlan el ingreso del colesterol en las células hepáticas y extrahepáticas. Las investigaciones acerca del metabolismo de las lipoproteínas en diversos estados de enfermedad con relación a los niveles de apolipoproteínas pueden permitir una mejor comprensión de los mecanismos subyacentes en los cambios de lipoproteínas y acerca del desarrollo del proceso aterogénico (44).

Estudios realizados sobre familias, en los cuales se presentan pacientes postinfarto y en los cuales se analizan los valores de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, y niveles de apo A

y B, indican que los niveles de apolipoproteínas son mejores indicadores de riesgo que los niveles de lípidos séricos en familias con antecedentes de enfermedad coronaria (45). Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular que permiten el estudio de DNA, es ahora posible investigar acerca de la presencia de genes de riesgo de arterioesclerosis. El análisis del DNA facilitará la identificación de la estructura de las apo B en un futuro próximo. Alteraciones en el DNA dentro de algunos loci (apo A, E y receptor de LDL) se han mostrado asociadas con desórdenes de las lipoproteínas. Algunas anomalías influirían levemente el metabolismo de los carbohidratos pero podrían ser de gran significancia a nivel poblacional especialmente cuando su acción esté favorecida por factores ambientales (46).

Teniendo como marco de referencia la influencia multifactorial sobre los valores de las sustancias presentes en sangre y objeto de los análisis en química clínica y muy particularmente resaltando 15 referente a los lípidos, nos encontramos con que la variabilidad de las lipoproteínas y lípidos séricos impiden el establecimiento de valores aceptados universalmente, como se asume al analizar los resultados de laboratorio de un paciente particular a la luz de lo considerado como intervalo de referencia en la técnica utilizada, ya que lo que podría considerarse como normal en un grupo específico de población no es aplicable a otra. Al transferir una prueba desde la población en la cual fue desarrollada al ambiente clínico (es lo que realizamos en nuestro medio) es peligroso ignorar el espectro de la población en estudio y la parcialidad de las interpretaciones (44, 47) ya que los pacientes en los que se desarrolla y se evalúa una prueba, deben representar excelentemente la población clínica de pacientes en los que dicha prueba será utilizada en última instancia.

Como consecuencia de la ambigüedad mencionada sobre lo considerado como normal, sobre la ausencia de especificaciones de la población en la cual se han obtenido los valores supuestamente normales y por los riesgos que implica la transferencia geográfica de dichos valores, N. E. Saris y

R. Grasbeck (45, 48) introdujeron el concepto y teoría de los valores de referencia, lo cual significa toda una nueva filosofía e implica la obtención de dichos valores en condiciones estandarizadas y con las descripciones explícitas y concretas de los grupos de referencia, ya que es propio de tales valores tener en cuenta el espectro o características de la población y la capacidad de la prueba de clasificar a dicha población.

El porqué de los valores de referencia ha sido claramente especificado por Dybkaer y Grasbeck (46-51). El valor observado de una cantidad provee información clínicamente significativa cuando se le compara con un valor de referencia apropiado. En química clínica las bases para la comparación son otros valores del mismo tipo de cantidades (analitos) obtenidos de la misma persona o de individuos de referencia comparables.

Al hablar de individuos de referencia comparables, se refiere al hecho de que dichos valores han de ser obtenidos en personas cuyas características sean similares en aspectos genéticos, estructura social, hábitos, ambiente geográfico y cultural, a la población que será evaluada a través de los valores de referencia.

Dichos valores de referencia deberán ser establecidos estudiando el constituyente en personas sanas y en diversos estados de enfermedad, o entre una enfermedad particular y otras incluidas en el diagnóstico diferencial. Igualmente tales valores deberán ir precedidos de las descripciones del estado de salud de los individuos de referencia. Por ejemplo, al hablar de los valores de referencia para el perfil lipídico sanguíneo y apolipoproteínas, obviamente los individuos seleccionados no deberán presentar trastornos que afecten el metabolismo de estos constituyentes para considerarlos supuestamente sanos ya que los valores obtenidos en ellos sirven de parámetro para aceptar o descartar la existencia de trastornos relacionados. Igualmente se deben hacer las discriminaciones pertinentes acerca de otras variables que inciden en dichos valores: edad, sexo, raza, hábitos, y controlar todas aquellas condiciones analíticas mencionadas previamente, que incrementan la variabilidad de los resultados.

La información precedente y la gran importancia que actualmente tiene la valoración del perfil lipídico y las apolipoproteínas para identificar uno de los factores de riesgo más importantes de enfermedad vascular, permite resaltarla necesidad de obtener para estos compuestos biológicos Valores de Referencia. Tales valores obtenidos sobre el grupo específico de población en el cual serán utilizados, incrementarán el valor predictivo de estas cuantificaciones, que les permite constituirse en verdaderos instrumentos de vigilancia epidemiológica.

OBJETIVOS

Objetivo general: determinar los valores de referencia de las apo A y B para la población de Manizales y su correlación con los valores de triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL y colesterol HDL.

Objetivos específicos: determinar los valores de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL y Apo A y B en personas sanas de la población de Manizales.

Analizar la correlación existente entre los valores de lípidos séricos y apoproteínas.

Establecer los valores de referencia de Apo A y B, para la población de Manizales.

MATERIAL Y METODOS

Población y muestra. La población en estudio corresponde a los habitantes de Manizales mayores de 15 años. La distribución de dicha población por grupos de edad y sexo se observa en la Tabla 1.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se aplicó la siguiente ecuación:

$$N = \left(\frac{Z_c \sigma}{E_{\max}} \right)^2 \quad \text{Donde:}$$

N = tamaño de la muestra.

Z_c = valor crítico de la variable normal para un valor de confianza asumido.

σ = desviación estándar poblacional estimada con base en la mayor desviación observada en el perfil lipídico.

$E_{\max}$ = error máximo permisible en la medida de los valores del perfil lipídico y apoproteínas.

Para un nivel de confianza de 95% (aceptado) el valor de la variable normal es de $Z_c = 1.96$. La desviación estándar poblacional en la medida de lípidos y apoproteínas se estimó en 15 mg/dl y el error máximo permisible en estas medidas es de $E_{\max} = 2.1$ mg/dL. Asumidos estos valores que garantizan un tamaño de muestra apropiado, se procedió a su cálculo.

$$N = \left(\frac{1.96 \times 15}{2.1} \right)^2 = 196 \text{ muestras}$$

La fracción de muestreo es entonces:

$$F = \frac{196}{191881} = 0.0011256 \quad F = \frac{\text{tamaño muestral}}{\text{tamaño poblacional}}$$

Para hallar los tamaños de la muestra provenientes de cada estrato (por grupos de edad y sexo) se multiplican los valores de los estratos poblacionales dados por la Tabla 1 por la fracción de muestreo, $F = 0.0011256$.

Descripción de la muestra

La conformación de la muestra estratificada por edad y sexo se halla en la Tabla 2.

El tipo de muestreo es aleatorio estratificado,

Tabla 1. Distribución de la población mayor de 15 años de edad de Manizales por grupos de edad y sexo.

Grupos de edad	Hombres	Mujeres	Total
15-24	29002	35656	64658
25-44	36027	43932	79959
45-59	13323	16022	29345
60 y más	8192	9727	17919
TOTAL	86544	105337	191881

Tabla 2. Distribución por edad y sexo de una muestra de 196 personas de la población de Manizales.

Grupos de edad (años)	Total	Hombres	Mujeres
15-24	68	30	38
25-44	81	37	44
45-59	29	13	16
60 y más	18	8	10
TOTAL	196	88	108

no obstante, en la selección de los pacientes se tendrán en cuenta los siguientes criterios: peso óptimo, pulso normal, presión arterial normal y ausencia de antecedentes de obesidad, hipertensión, infarto, diabetes, arterioesclerosis, flebitis, gota y consumo de medicamentos.

Variables

VARIABLE	TIPO VARIABLE	INDICADOR	INDICE
Triglicéridos	cuantitativa	valor en suero	mg/dL
Colesterol total	cuantitativa	valor en suero	mg/dL
Colesterol HDL	cuantitativa	valor en suero	mg/dL
Colesterol VLDL	cuantitativa	cálculo según Friedwald	mg/dL
Colesterol LDL	cuantitativa	cálculo según Friedwald	mg/dL
Apoproteína A	cuantitativa	valor en suero	mg/dL
Apoproteína B	cuantitativa	valor en suero	mg/dL
Sexo	cualitativa	masculino femenino	M - F

Procedimiento

A cada uno de los integrantes de la muestra se le realizó una encuesta y examen clínico para descartar las alteraciones que afecten el perfil lipídico como se mencionó previamente en la selección de la muestra. Una vez establecido que son clínicamente sanos se procedió a realizar la determinación de lípidos séricos y apo A1 y B. Los pacientes que, reuniendo los criterios especificados para la selección de la muestra presentaron anomalías en el perfil lipídico, fueron descartados y reemplazados por otros.

Perfil lipídico. Cada uno de los individuos fue sometido a un período de ayuno de 12 horas, con el fin de determinar los valores de triglicéridos, colesterol total, y colesterol HDL y apoproteínas. Igualmente se refrigeró una alícuota de la muestra durante 18 horas a 4°C.

La muestra de sangre fue procesada para los siguientes componentes del perfil lipídico: colesterol total, utilizando el método anzimático según lo descrito por Allain (52), colesterol HDL mediante precipitación de VLDL, quilomicrones, IDL y LDL con cuantificación de HDL en el sobrenadante (53), triglicéridos por el método enzimático

(54) y apoproteínas por inmunturbidimetría (55). Los valores de colesterol VLDL y LDL se obtuvieron mediante la fórmula de Friedwald (56).

Método estadístico

Para el análisis de los datos se procedió en primer término a discriminar la muestra en estudio de acuerdo al sexo.

Obtenida esta clasificación, se verificó la distribución de los valores de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL, con el fin de decidir el método adecuado para el cálculo de promedios y desviación estándar.

Ya que los datos no presentan una distribución normal y con el fin de aplicar hipótesis gaussiana a tales valores, se realizó el análisis de distribución 2 Paramétrica Log-Normal.

Para ello se realizaron las siguientes operaciones:

1. Para cada uno de los valores de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL se calculó su logaritmo neperiano.
2. Sobre tales logaritmos se calcularon promedios y varianza.
3. Para el cálculo de los intervalos de cada compuesto analizado se buscó la desviación estándar a partir de la varianza. Y con los datos de la desviación estándar se obtuvieron los límites superior e inferior de cada compuesto, así:

$$\text{Límite superior} = \bar{X} + 1.96 S$$

$$\text{Límite inferior} = \bar{X} - 1.96 S$$

$$\text{Intervalo de valores para cada variable} = \bar{X} \pm 1.96 S$$

4. Obtenidos los promedios de cada variable se procedió a realizar el análisis de regresión entre las variables en estudio y a determinar el nivel de significancia de las correlaciones encontradas utilizando el paquete estadístico Pestats.

RESULTADOS

El análisis de los resultados fue practicado finalmente sobre una muestra de 189 personas. El número de elementos de la muestra no incluidos (1) se explica por la existencia de anomalías en el

perfil lipídico. La distribución final de la muestra de 189 personas se observa en la Tabla 3.

Teniendo en cuenta las estratificaciones por edad y sexo y aplicados los procedimientos estadísticos especificados previamente, los valores de apoproteínas son los que se observan en las Tablas 4 y 5 para apo A1 y en las Tablas 6 y 7 para apo B.

Con relación a la apo A1, se observa en las Tablas 4 y 5 que los límites inferiores se encuentran en los grupos de edad de 15 a 24 años, así: 75.34 mg/dL para el sexo masculino y 82.99 para el sexo femenino y se presenta un incremento a partir de este grupo de edad, presentándose los mayores valores en los grupos de 25 a 44 con un valor de 109.06 mg/dL en los hombres y en las mujeres el valor más alto se encuentra entre 45 y 59 años con una concentración de 99.50 mg/dL. Para el sexo masculino se observa disminución de la apo A1 a partir de los 45 años. Con relación al sexo femenino los valores por grupos etarios presentan ligeras variaciones.

La apo B, cuyos datos se registran en las Tablas 6 y 7, presenta comportamiento similar a la apo A1, es decir los valores inferiores se encuentran entre los 15 y 24 años para ambos sexos: 53.45 mg/dL en hombres y 61.90 mg/dL en las mujeres. Los valores más altos corresponden a la edad de 25 a 44, 84.34 mg/dL en el sexo masculino y 78.44 mg/dL en el sexo femenino. Estos valores disminuyen en el sexo masculino y presentan muy ligeras variaciones en el sexo femenino. En la Tabla 8 se ven los resultados generales de promedios e intervalos de referencia según el sexo. Las observaciones registradas en esta tabla muestran que los valores promedios de

Tabla 3. Distribución de una muestra de 189 personas de la ciudad de Manizales.

Grupos edad (años)	Total	Hombres	Mujeres
15-24	68	30	38
25-44	81	37	44
45-59	29	13	16
60 y más	11	4	7
TOTAL	189	84	105

Tabla 4. Valores de referencia de apoproteínas A1 por grupos de edad, sexo masculino.

Grupos de edad (años)	Apoproteína A1 (mg/dL)	
	X	Intervalo (X $\pm$ 2S)
15-24	75.34	61.14-89.54
25-44	109.06	97.01 - 121.10
45-59	99.80	87.98 - 111.62
60 y más	83.-12	74.41 -91.82

Tabla 5. Valores de referencia de apoproteínas A1 por grupos de edad, sexo femenino.

Grupos de edad (años)	Apoproteína A1 (mg/dL)	
	X	Intervalo (X $\pm$ 2S)
15-24	82.99	79.97 - 85.01
25-44	97.89	92.58 - 103.19
45-59	99.50	90.12- 108.88
60 y más	96.90	91.24- 102.54

apo A1 y B son más elevados en el sexo femenino.

Con el fin de determinar si las diferencias observadas en las apo A1 y B en los diferentes grupos de edad y sexo son significativas, se realizó la prueba T encontrándose que todas las diferencias son estadísticamente significativas $p < 0.001$.

Una vez aplicado el análisis de correlación para los valores de apo B y la edad, la correlación observada fue de 0.04 y con el sexo de 0.07, y la correlación de ambas variables con la apo B es sólo de 0.07 con una significancia de $p < 0.49$. Con relación a la apo A1, la correlación con la edad es de 0.32 y con el sexo es de 0.1. Estas correlaciones son más altas cuando se establecen según la forma como se presenta el incremento de las apoproteínas por grupos de edad. Como se mencionó previamente, existe un incremento de las apoproteínas entre los grupos de 15 a 44 y 25 a 44 años; por ello al calcular la correlación de niveles de apoproteínas con edad hasta los 45 años, observamos que $r = 0.4$ para la apo A1 y $r = 0.3$ para la apo B; la significancia de estas correlaciones hasta los 45 años es de $p < 0.001$.

Tabla 6. Valores de referencia de apoproteína B por grupos de edad, sexo masculino.

Grupos de edad (años)	Apoproteína B (mg/dL)	
	X	Intervalo (X $\pm$ 2S)
15-24	53.45	44.98 - 61.91
25-44	84.34	69.81 - 98.86
45-59	72.78	56.68 - 88.88
60 y más	69.31	46.30 - 92.31

Tabla 7. Valores de referencia de apoproteína B por grupos de edad, sexo femenino.

Grupos de edad (años)	Apoproteína B (mg/dL)	
	X	Intervalo (X $\pm$ 2S)
15-24	61.90	51.33 - 72.46
25-44	78.44	63.26 - 93.62
45-69	78.22	59.01 - 97.42
60 y más	78.70	66.64 - 90.76

Los datos obtenidos en el análisis de regresión múltiple indican que la apo A1 está influida por la edad en 10% y la ecuación que permite predecir los niveles de apo A1 según la edad tiene un $p < 0.0000$. Con relación a la apo B, sólo un 7% depende de la edad y la ecuación que permite predecir su valor según edad es $p < 0.0004$. Las Figuras 1 y 2 permiten observar la dispersión de los valores de apoproteínas con relación a la edad y su respectivo análisis de regresión.

Dentro de los objetivos planteados en esta investigación se encuentra el estudio de la correlación (ro) entre los niveles de apoproteínas y lípidos séricos. La correlación observada entre apo B y estos analitos fue la siguiente: con triglicéridos la correlación es de 0.33 ($p < 0.001$); con C-VLDL la correlación es de 0.27 ($p < 0.001$); con

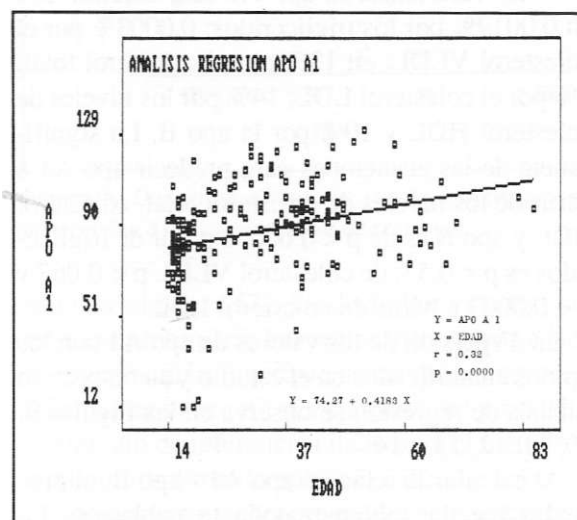
Tabla 8. Valores de referencia de apoproteína A1 y B según el sexo.

Sexo	Apoproteína A1 (mg/dL)		Apoproteína B	
	X	X $\pm$ 2S	X	X $\pm$ 2S
Masculino	95.0	85.6 - 104.4	70.2	62.3 - 77.9
Femenino	92.6	89.5 - 95.8	72.3	63.9 - 80.6

colesterol total dicha correlación es de 0.45 ($p < 0.001$); con C-LDL la correlación es 0.34 ($p < 0.001$) y con colesterol HDL se encuentra el nivel más bajo de correlación 0.5; la correlación entre apo B y apo A1 es de 0.32.

Realizado el análisis de regresión se observó lo siguiente: la apo B está influida en 11% por los triglicéridos, en 7% por el colesterol VLDL; en 20% por el colesterol total, en 11% por el colesterol LDL, en 5% por el colesterol HDL y en 10% por los niveles de apo A1. La ecuación resultante para predecir los niveles de apo B a partir de triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL y apo A1 tienen una significancia de $p < 0.0000$. La significancia para predecir esta apo a partir de colesterol VLDL es de $p < 0.0002$ y a partir de colesterol HDL es sólo de $p < 0.4420$. Las Figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8, permiten apreciar la dispersión de los valores de apo B y las fracciones lipídicas analizadas y su respectivo análisis de regresión.

El análisis de correlación practicado sobre los niveles de apo A1 y los lípidos séricos, es la siguiente: con triglicéridos es de 0.04; con colesterol VLDL -0.016; con colesterol total 0.36, con colesterol LDL 0.26. La correlación más alta corresponde al colesterol HDL con 0.38 y $p < 0.001$. La significancia fue de $p < 0.001$ en las

**Figura 1.** Dispersión de los valores de apoproteína A1 según la edad. Incluye análisis de regresión.

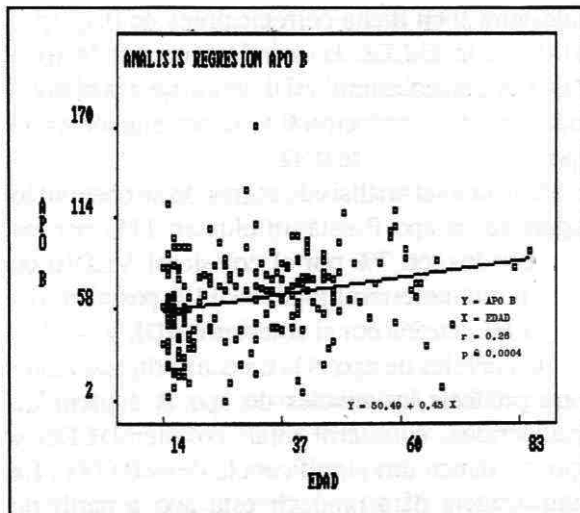


Figura 2. Dispersión de los valores de apoproteína B según la edad. Incluye análisis de regresión.

correlaciones encontradas a excepción de la relacionada con el colesterol VLDL en donde dicha correlación, siendo negativa, tiene una significancia de $p < 0.6$. Aunque la significancia de esta correlación es baja es de destacar que, por ser negativa, niveles altos de colesterol VLDL se asociaran a niveles bajos de apo A1. Finalmente la correlación entre apo A1 y apo B es de 0.32.

En el análisis de regresión se hallaron los siguientes resultados: la apo A1 está determinada en 0.0019% por los triglicéridos; 0.0003% por el colesterol VLDL; en 13% por el colesterol total; 7% por el colesterol LDL; 14% por los niveles de colesterol HDL y 10% por la apo B. La significancia de las ecuaciones para predecir apo A1 a partir de los niveles de colesterol total, colesterol HDL y apo B es de $p < 0.000$; a partir de triglicéridos es $p < 0.55$; de colesterol VLDL $p < 0.067$ y $p < 0.0003$ a partir de colesterol LDL.

La dispersión de los valores de apo A1 con los lípidos cuantificados en el estudio y su respectivo análisis de regresión se observa en las Figuras 9, 10, 11, 12, 13 y 14.

Al calcular la relación apo A1 - apo B, el promedio fue de 1.97 para toda la población. La correlación existente entre esta relación y la apo B es inversa (-0.40) y con apo A1 es de 0.01. La

significancia de dicha correlación es de $p < 0.000$ con la apo A1 apo B señalando que, a mayores niveles de apo B, el cociente apo A1 : apo B será menor. La significancia de la correlación entre niveles de apo A1 con el cociente mencionado es $p < 0.62$.

Igualmente se estableció la correlación entre el cociente LDL : HDL con apo A1 apo B encontrándose que ésta es sólo de 0.05 y su significancia $p < 0.45$.

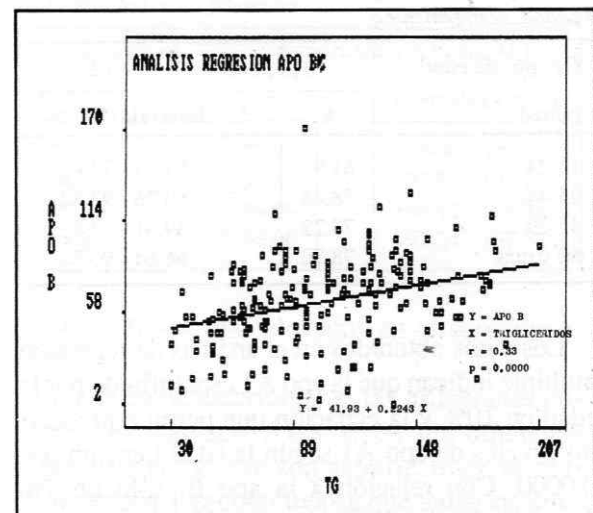


Figura 3. Dispersión de los valores de apoproteína B y triglicéridos. Se incluye análisis de regresión.

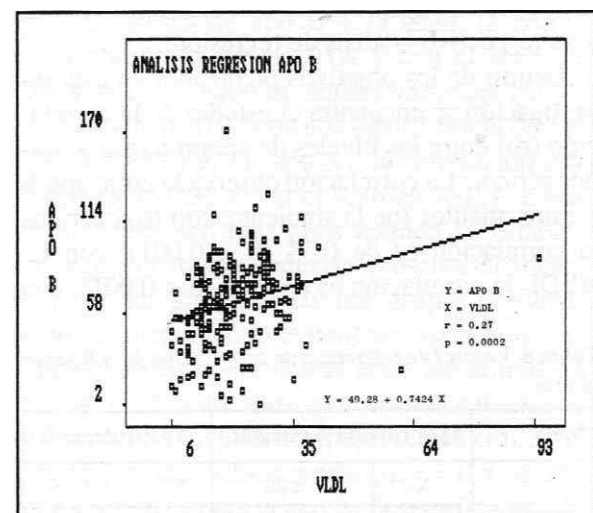


Figura 4. Dispersión de los valores de apoproteína B y VLDL. Se incluye análisis de regresión.

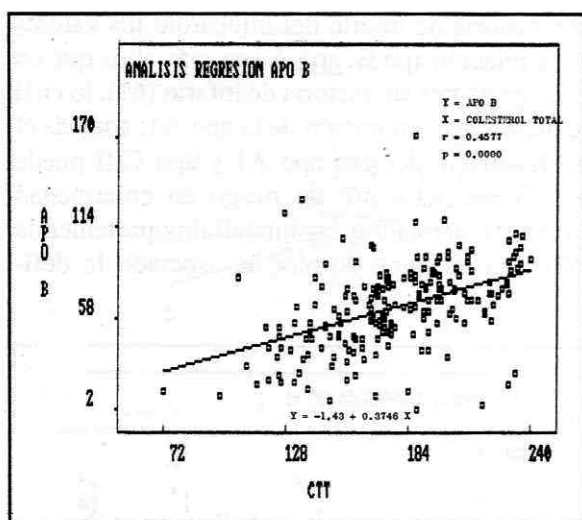


Figura 5. Dispersión de los valores de apoproteína B y colesterol total. Se incluye análisis de regresión.

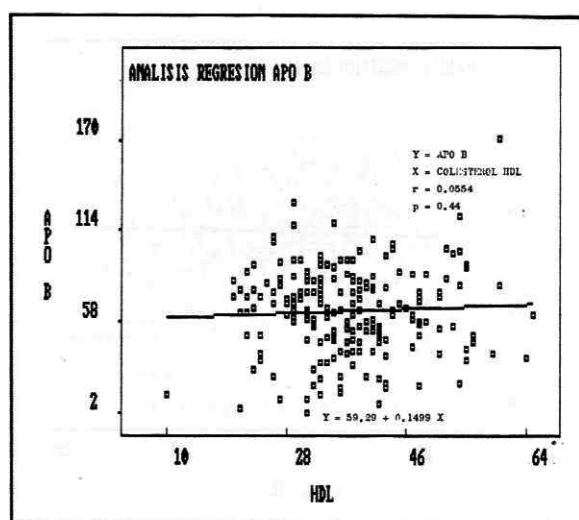


Figura 7. Dispersión de los valores de apoproteína B y colesterol de alta densidad (HDL). Incluye análisis de regresión.

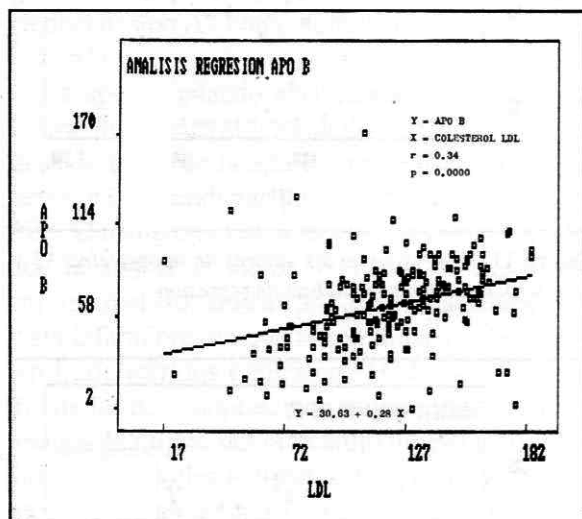


Figura 6. Dispersión de los valores de apoproteína B y colesterol de baja densidad (LDL). Se incluye análisis de regresión.

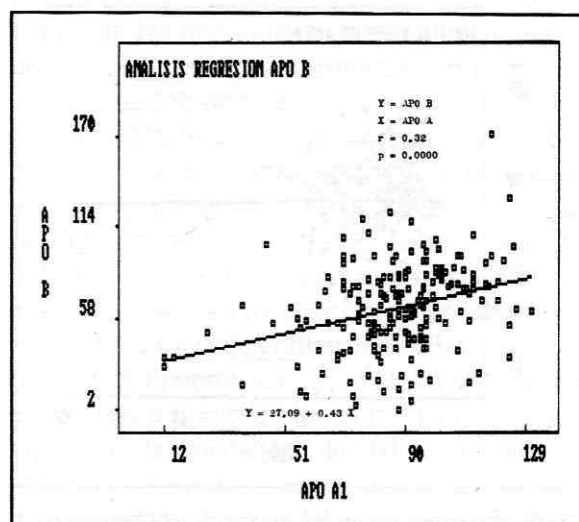


Figura 8. Dispersión de los valores de apoproteína B y apoproteína A1. Incluye análisis de regresión.

DISCUSION

Aunque son relativamente escasos los trabajos sobre valores de referencia de apo A1 y B, los resultados obtenidos en el estudio difieren notablemente de los reportados por diversos investigadores en los cuales los valores promedio y el intervalo de referencia son superiores en otros grupos de población, aunque el comportamiento de los niveles de apoproteínas en relación a la

edad es similar (57), es decir los valores inferiores se presentan a intervalos menores de edad y se incrementan ligeramente al aumentar ésta. Igualmente existe diferencia entre los promedios e intervalo de referencia citado para el método de inmunturbidimetría aplicado (58).

La necesidad de tener valores de referencia de apo A1 y B propios para las poblaciones en las cuales estos resultados se aplican, se resalta una

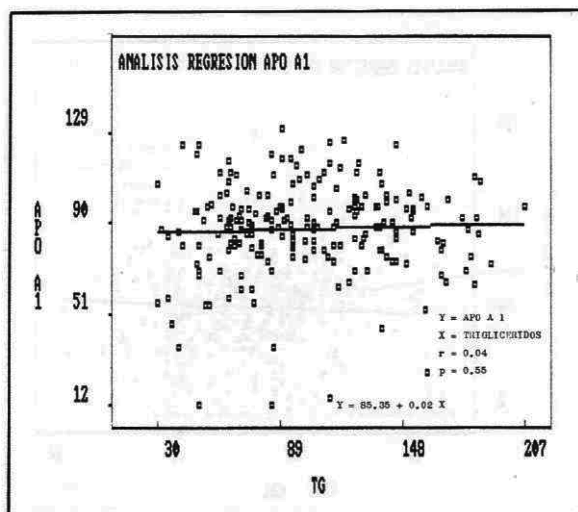


Figura 9. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y triglicéridos. Incluye análisis de regresión.

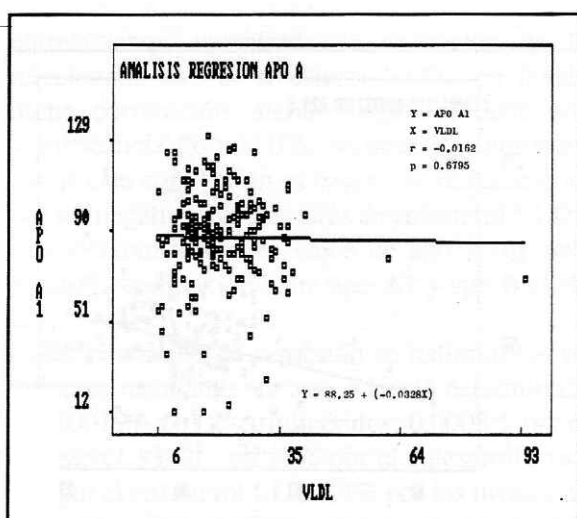


Figura 10. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y VLDL. Incluye análisis de regresión.

vez más con los resultados de este estudio ya que la determinación de apoproteínas es un enfoque actual en la estimación de riesgo coronario demostrada a través de diversos estudios, en donde es más importante el valor de la determinación apo A1 que el de C-HDL (59). Los estudios realizados por Bruce y col, concluyen que los niveles de apoproteínas especialmente A1 y AII son mejores marcadores de enfermedad coronaria (60). Igualmente se ha reportado que en hijos de padres

con historia de infarto del miocardio los valores de la relación apo B, apo A son más altos que en hijos de padres sin historia de infarto (61), lo cual se debe a la disminución de la apo A1; además el polimorfismo del gen apo A1 y apo CIII puede ser un marcador útil de riesgo en enfermedad coronaria prematura en hipoalfalipoproteinemia (62). Por su parte Norum ha asociado la defi-

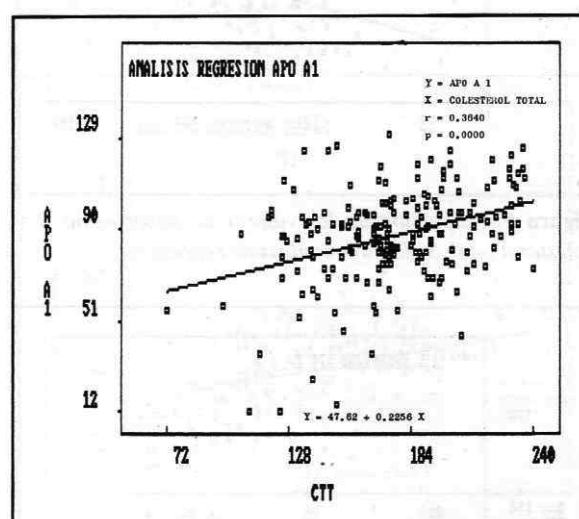


Figura 11. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y colesterol total. Incluye análisis de regresión.

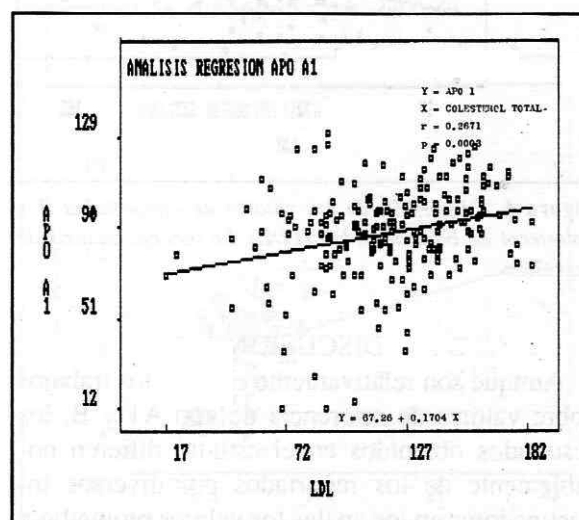


Figura 12. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y colesterol de baja densidad (LDL). Incluye análisis de regresión.

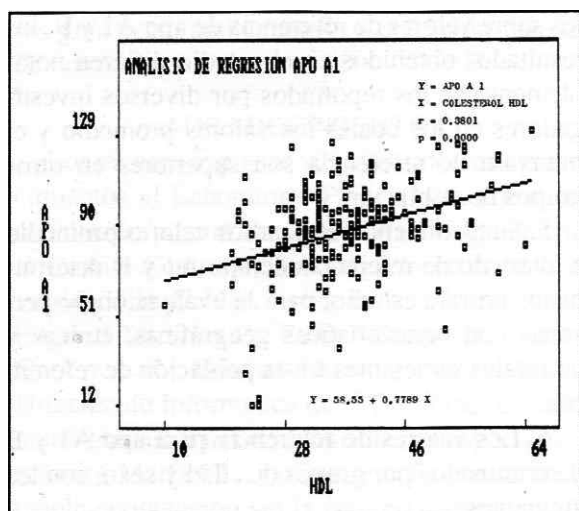


Figura 13. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y colesterol de alta densidad (HDL).

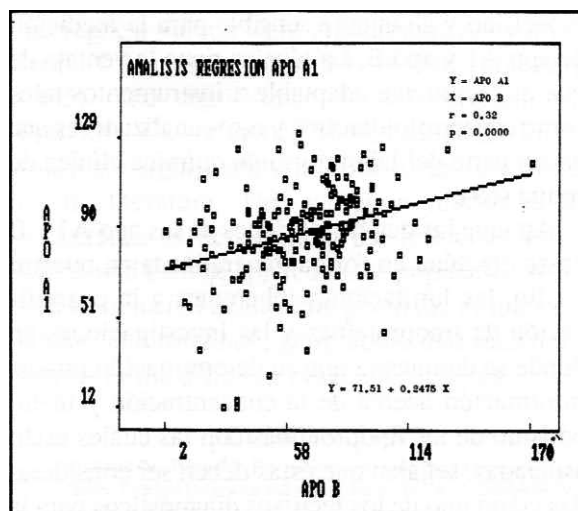


Figura 14. Dispersión de los valores de apoproteína A1 y B.

ciencia de apo A1 con enfermedad coronaria precoz (63).

La apo B, cuando está elevada, se asocia al infarto del miocardio (64) y las variaciones genéticas de locus de la apo B, pueden ser un riesgo nuevo e independiente para infarto del miocardio (65). Durrington et al, a su vez, han determinado que la apo B es mejor indicador de riesgo de enfermedad isquémica cardíaca en pacientes con y sin infarto previo, que la combinación de colesterol, triglicéridos y colesterol HDL (66). El estudio de las dos apoproteínas en pacientes sobrevivientes de infarto del miocardio muestran asociación entre niveles reducidos de apo A1 y niveles incrementados de apo B (67). Por otra parte, la apo B se encuentra aumentada en las hiperlipidemias Ha, IIb y IV, las cuales están asociadas con enfermedad coronaria prematura, de tal manera que la determinación de apo B puede ser útil como prueba de selección de estos pacientes. Igualmente puede ser útil en el manejo de pacientes con estas hiperlipoproteinemias, ya que dietas de bajo contenido en grasas saturadas, sustituidas por grasas poliinsaturadas reducen los niveles de apo B, paralelamente con los niveles de colesterol y triglicéridos séricos (68).

Aunque tradicionalmente la evaluación de riesgo coronario se ha realizado a través del perfil

lipídico, las limitaciones inherentes a la cuantificación de las lipoproteínas se relacionan con el hecho de que éstas son estimadas con base en la cantidad de colesterol asociada a ellas (el colesterol constituye una fracción del total de la macromolécula que es la lipoproteína); de tal manera que las mediciones de colesterol pueden no reflejar seguramente los niveles de lipoproteínas debido a la variación en la composición de las mismas. Además los procedimientos de laboratorio realizados para la determinación de las diferentes fracciones lipoproteicas de colesterol están sujetas a errores potenciales, entre los que se destaca que la medición de HDL requiere la precipitación de proteínas de baja densidad, muy baja densidad y la cuantificación siguiente de las de alta densidad. La determinación directa de colesterol LDL no se practica en el laboratorio clínico debido a la necesidad de ultracentrifugación y este valor es calculado por sustracción del colesterol HDL y del VLDL (triglicéridos/5) del colesterol total (57).

Frente a estas dificultades es importante tener en cuenta que las determinaciones de apoproteínas tienen menos causa de error, ya que es posible hacerlas directamente a través de varios métodos como RIA, EIA, e inmunturbidimetría. La inmunturbidimetría es un método preciso, seguro,

específico y altamente sensible para la medición de apo A1 y apo B. La técnica tiene la ventaja de que es fácilmente adaptable a instrumentos tales como espectrofotómetros y otros analizadores que hacen parte del laboratorio de química clínica de rutina (69).

Aunque las determinaciones de las apo A1 y B no se efectúan en forma generalizada en nuestro medio, las limitaciones inherentes a la cuantificación de lipoproteínas y las investigaciones en donde se demuestra que su determinación provee información acerca de la concentración y metabolismo de las lipoproteínas con las cuales están asociadas, señalan que éstas deben ser consideradas como uno de los recursos diagnósticos para la detección y vigilancia de los factores de riesgo asociados al metabolismo lipídico. Para ello el primer paso deberá ser la estandarización de los procedimientos a nuestro alcance y la determinación de los valores de referencia que puedan ser aplicados a las poblaciones objeto de estudio con el fin de asegurar la confiabilidad y validez de las observaciones realizadas. Igualmente se recomienda realizar estudios prospectivos acerca de la sensibilidad y valor predictivo de estas determinaciones en la discriminación de pacientes de riesgo.

Teniendo como objetivo fundamental en el presente estudio el establecimiento de los valores de referencia de apo A1 y B, para la población de Manizales y a partir de los resultados finales presentados en las Tablas 4, 5, 6, 7 y 8, se destacan los siguientes aspectos:

1. Si bien no existe dependencia directa entre la edad y las apo A1 y B, de acuerdo con el índice de correlación obtenido, se observa variabilidad en los diferentes grupos de edad. Las diferencias observadas por grupos de edad son estadísticamente significativas.

2. Los valores promedio de apo A1 y B presentaron variaciones según el sexo (Tabla 8).

3. Existe una correlación de 0.45 entre los niveles de colesterol total y apo B, y de 0.38 colesterol HDL y apo A1; tales correlaciones son altamente significativas ($p < 0.001$).

4. Aunque son relativamente escasos los traba-

jos sobre valores de referencia de apo A1 y B, los resultados obtenidos en el estudio difieren notablemente de los reportados por diversos investigadores en los cuales los valores promedio y el intervalo de referencia son superiores en otros grupos de población.

5. Se recomienda utilizar los valores promedio e intervalo de referencia de apo A1 y B determinados en este estudio, para la evaluación de personas con características geográficas, étnicas y culturales semejantes a esta población de referencia.

6. Los valores de referencia para apo A1 y B discriminados por grupos de edad y sexo, son los siguientes:

GRUPOS DE EDAD	APOPROTEÍNA A1 (mg/dL)			
	Hombres		Mujeres	
	X	Intervalo	X	Intervalo
15-24	75	61 - 90	83	80 - 85
25-44	109	97-121	98	93 - 103
45-59	100	88 - 111	100	90 - 109
60 y más	83	75 - 92	97	91 - 102

GRUPOS DE EDAD	APOPROTEÍNA B (mg/dL)			
	Hombres		Mujeres	
	X	Intervalo	X	Intervalo
15-24	54	45 - 62	62	51 - 73
25-44	84	70 - 99	79	63 - 94
45-59	73	57 - 89	78	59 - 98
60 y más	69	46 - 92	79	67 - 91

7. Las posibilidades de las mediciones de apoproteínas para la selección de pacientes asintomáticos o pacientes atípicos para confirmar la presencia de enfermedad coronaria, requieren la estandarización de las técnicas a aplicar por los laboratorios y además determinar la sensibilidad de los métodos para discriminar entre pacientes con enfermedad coronaria y pacientes control.

8. Cuando se decide adoptar una tecnología para el estudio de pacientes, el primer paso a seguir es la determinación de los valores de referencia con los cuales se comparará la población en estudio, dadas las múltiples influencias que sobre los componente sanguíneos ejercen facto-

res genéticos, ambientales, y ubicación geográfica entre otros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus más sinceros agradecimientos al Laboratorio Parke Davis por su financiación parcial de este proyecto, igualmente al Comité Central de Investigaciones de la Universidad de Caldas, a las bacteriólogas: Clara Eugenia Miranda C., Edith Villegas B., Leonor Gutiérrez A., Cristina Marín L., al Centro de Difusión de Informática de la Corporación Autónoma Universitaria de Manizales en especial a la señorita María Gladys Quintero R. por su invaluable cooperación sin la cual esta investigación no se hubiera podido llevar a cabo.

SUMMARY

In the present study the reference values for Apoprotein A1 and B were determined for the population of the city of Manizales. For this effect stratified proportional sample of the conglomerados was done. With a total of 126 patients, quantification of serie lipids, Apoprotein A1 and B was done and the average of population was calculated with analysis of distribution 2 Parametric Log Normal. With the data obtained the correlation coefficient (r) was calculated. Statistical significancy of these coefficients and regression analysis of the values of Apoprotein with serie lipids, age and sex were analyzed. The results showed differences in the levels of Apoproteins for age groups. We observed the lowest values of Apoprotein A1 and B in the group of ages 15 to 24 years. The-values of Apoprotein A1 augments up to 44 years of age in men and after decreases slowly, in the women the increase of Apoprotein A1 is evident up 59 years of age, and then it decreases slightly after 60 years. With respect to the values of Apo B the same behaviour as in Apo A was observed. However, the correlation of Apo A1 and B with age is very low. Significant statistical differences were found between the average values of Apoprotein A1 and Apoprotein B for age and sex groups. Once, the correlations with different serie lipids were done

the highest values were Apoprotein A1 with C-HDL (0.38), and Apoprotein B with cholesterol (0.45). The significance of the correlation is $P < 0.001$. The reference values obtained in this study are significantly inferior to those reported in the literature. This variation reinforces the importance of determining the reference values which will then be applied to the population which will be object of health care given the influence of ethnic, enviromental, geographic and nutritional factors in the different population groups.

REFERENCIAS

1. **Statland BE, Winkel P.** Pre-instrumental sources of variation. In: J. B. Henry: Clinical Diagnosis and management. 17 Ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1984: 61.
2. **Carlsten A.** Arterial concentration of free fatty acids and free aminoacids in healthy individuals at rest and at different work loads. *Scand J Clin Lab Invest* 1962; **14**: 185.
3. **Barret P.** Hiperbilirubinemia of fasting. *JAMA* 1971; **217**: 1349.
4. **Statland BE, Winkel P.** Bokelund II. Factors contributing to intraindividual variations of serum constituents: 2. effects of exercise and diet on variations serum constituents in healthy subjects. *Clin Chem* 1973; **19**: 138D.
5. **Beifrage P, Berg B, Hagerstrand I.** Alterations of lipid metabolism in healthy volunteers long term ethanol intake. *Eur J Clin Invest* 1977; **7**: 127.
6. **Dalferes ER, Weber LS.** Continuous flow (autoanalyzer) analysis for plasma thiocyanate as and index to tobacco smoking. *Clin Chem* 1980; **26**: 493.
7. **Winkel P, Statland BE.** Using the subject as his own reference in assesing day to day changes of laboratory test results. *Contemp Top Clin Anal Chem* 1977; **1**: 287.
8. **Statland BE, Winkel P, Bokelund H.** In J. B. Henry. Clinical Diagnosis and Management. Philadelphia: W. B. Saunders; 1984: 69.
9. **Schwartz MK.** Interference in diagnostic Biochemical Procedures. *Adv Clin Chem* 1973; **16**: 1.
10. **Larsson - Cohn U.** Difference between capillary and venous blood glucosa during oral glucose tolerance tests. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; **36**: 805.
11. **Calam RR.** Reviewing the importance of specimen collection. *J Am Med Techn* 1977; **39**: 397.
12. **Galen RS.** Estadísticas. En: Sonnenwirth, Jarrett eds. *Métodos y Diagnósticos del Laboratorio Clínico*. 8 Ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 1983: 36-38.
13. **Dybkaer R, Grasbeck R.** Theory of reference values. *Scand J Clin Lab Invest* 1973; **32**: 1-7.
14. **Ladenson JH.** Fuentes no analíticas de variación. En: Sonnenwirth AC, Jaret L. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8 Ed. Buenos Aires, Editorial Panamericana; 1983:136.
15. **Weitzman ED.** Circadian rhythms and episodic hormone secretion in man. *Ann Rev Med* 1976; **27**: 225.
16. **Segal P, Bachorik PS.** Lipids and Dyslipoproteinemia. In: JB Henry: Clinical Diagnosis and management. 17 Ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1984: 194.
17. **Kaplan L, Pesce AJ.** Química Clínica. 1 Ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 1986: 664.
18. **Segal P, Rifkind BM.** Genetic factors in lipoprotein variation. *Epidemiol Rev* 1982; **4**: 137.

19. **Craig JH, Poulis P, Hill G.** Serum lipoprotein and apolipoprotein A y B levels in familial hypercholesterolemia. *Aust NZ J Med* 1983; **13**: 241-246.
20. **Kachadurian AK.** The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med* 1984; **37**: 71-76.
21. **Keys A, Kimura N, Kusunawa A.** Lessons from serum cholesterol studies in Japan, Hawaii and Los Angeles. In: Quiney JR, Watts GF eds. *Classic Papers in Hyperlipidaemia*. London: Sciece Press; 1989: 59-70.
22. **Howard BV, Davis MP, Pettitt DJ, Knowler WC, Bennett PH.** Plasma and lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations in the Pima Indians: *Distributions difering from those of Caucasians - Circulation*, 1983; **68**: 714-724.
23. **Connors SJ, Artaud WS, Gustafson JR.** El índice colesterol/grasas saturadas: Un indicador del potencial hipercolesteremiante y aterogénico de los alimentos. *Lancet* 1986; **9**: 19-23.
24. **Packard J, McKinney L, Carr K, Shepherd J.** Cholesterol feeding increases low density lipoprotein synthesis. *J Clin Invest* 1983; **72**: 45-51.
25. **Kay RM, Jacobs M, Rotstein OD.** Sustained alterations in lipoprotein cholesterol concentrations dependent on the daily distribution of lipid intake. *Atherosclerosis* 1983; **47**: 63-69.
26. **Friedman CI, Falko JM, Patel ST, et al.** Serum lipoprotein responses during active and stable weight reduction in reproductive obese females. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; **55**: 258-262.
27. **Khoury P, Morrison JA, Mellies MJ, Glueck CJ.** Weight change since age 18 years in 30 to 55 year old Whites and blacks pressure. *JAMA* 1983; **250**: 3179-3187.
28. **Wallace RB, Hoover J, Barrett, et al.** Altered plasma lipid and lipoprotein levels associated with oral contraceptive and estrogen use. *Lancet* 1979; **2**: 111.
29. **Farisch E, Fletcher DC, Hart DM, Kitchener H, Sharpe GL.** A long term study of the effect of norethisterone on lipoprotein metabolism in menopausal women. *Clin Chem Acta* 1983; **132**: 193-198.
30. **Kaplan L, Pesce AJ.** Química Clínica. 1 Ed. Buenos Aires, Editorial Panamericana; 1986: 664.
31. **Dawer T. R.** The Framingham study. Londres Harvard University Press; 1980.
32. **Naito HK.** Trastornos del metabolismo. En: Kaplan L, Pesce AJ: Química Clínica. 1 Ed. Buenos Aires, Editorial Panamericana; 1988: 664.
33. **Superko RH, Haskell WL, Wood PD.** Modificación de los niveles plasmáticos de colesterol mediante el ejercicio. *Tribuna Médica* 1987; (2): 4-10.
34. **Reynolds LK, Smith MC.** Effect of short term aerobic conditioning and high cholesterol feeding on plasma total and lipoprotein cholesterol levels in sedentary young men. *Am J Clin Nutr* 1983; **38**: 825-834.
35. **Smith MP, Méndez J, Druckenmiller M, Kris-Etherton PM.** Exercise intensity, dietary intake, and high density lipoprotein cholesterol in young females competitive swimmers. *Am J Clin Nutr* 1982; **36**: 251-255.
36. **Cullinane E, Siconolfi S, Saritelli A, Thompson PD.** Acute decrease in serum tryglicerides with exercises, is there a threshold for an exercise effect. *Metabolism* 31: 844-847.
37. **Durstine JC, Miller W, Farrell S, Sherman WM, Ivy JL.** Increases in HDL cholesterol and HDL/LDL cholesterol ratio during prolonged endurance exercise. *Metabolism* 1983; **32**: 993-997.
38. **Hagan RD, Smith MG, Gettman LR.** High density lipoprotein cholesterol in relation to food consumption and running distance. *Prev Med* 1983; **12**: 287-295.
39. **Winocur PH, Ishola H.** Anomalías de las lipoproteínas en la diabetes insulino dependiente. *Lancet* 1986; **9**.
40. **Hansson P, Valdemarsson S, Nilsson Ehle P.** Experimental hyperthyroidism in man: effects on plasma lipoproteins, lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Horm Metab Res* 1983; **15**: 449-452.
41. **Valdemarsson S, Hanson P, Hedber P, Nilsson-Ehle P.** Relations between thyroid function, hepatic and lipoprotein lipase activities and plasma lipoproteins concentrations. *Acta Endocrinol* 1983; **104**: 50-56.
42. **Monroy P, Vlahcevic HR, Swell L.** In vivo evaluation of Lipoprotein cholesterol ester metabolism in patients with liver disease. *Gast* 1983; **85**: 820-829.
43. **Kher JR, Baji PS.** Serum lipoproteins in lepromatous leprosy. *LEPR* 1983; **55**: 80-85.
44. **Rifai N.** Lipoproteins and Apolipoproteins. *Arch Pathol Lab Med* 1986; **110**:694-701.
45. **Jirkovska A, Valek J, Grafnetter D, et al.** Serum lipids and apolipoproteins in families post infarction men. *Ann Clin Res* 1987; **19**: 26-29.
46. **Kontulak A, Setala K, Nikkila E.** DNA, Hiperlipidaemias and Atherosclerosis. *An Clin Res* 1987; **18**: 242-249.
47. **Beck RJ.** El rol de las nuevas pruebas de laboratorio en la toma de decisiones clinicas. En: Benson-Conelly-Buik: Clinicas de laboratorio en medicina. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 1982: 81.
48. **Grasbeck R.** La teoria de los valores de referenda. Mimeografiado Curso Internacional sobre valores de referencia en laboratorio clinico. Bogota, 1984: 1.
49. **Dybkaer R, Grasbeck R.** Theory of reference values. *Scand. J Clin Lab Invest* 1973; **32**: 1-7.
50. **Dybkaer R.** Content and lay out of chemical results. Organization des laboratoires et interpretation des résultats. Biologic prospective. Troisième Colloque International. Pont a Mousson. L'Expansion Scientifique Francaise. *In siest. 6 Ed. Paris*, 1975: 795-800.
51. **Grasbeck R, Dybkaer R, Winkel P.** Relating observed values to reference values. *Ann Biol Clin* 1978; **36**: 193-194.
52. **Allain CC, Poon LS, Chon CS, Richmond D.**Enzimatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; **20**: 470.
53. **Bachorick PS, Wood PD.** Plasma high density lipoprotein cholesterol, concentrations determined after removal of other lipoproteins by heparin/manganese precipitation of by ultracentrifugation. *Clin Chem* 1976; **22**: 1828.
54. **Bucolo G, David H.** Quantitative determination of serum tryglicerides by the use of enzymes. *Clin Chem* 1973; **19**: 476.
55. **Rifai N, King Me.** Inmunoturbidimetric assays of apolipoproteins A, Al, AII, and B in serum. *Clin Chem* 1986; **32**: 9-57.
56. **Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS.** Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499.
57. **Albers JJ, Brunzell JD.** Apoprotein measurements and their clinical application. In: *Clinics In Laboratory Medicine*. Philadelphia: Saunders; 1989: 137-152.
58. **Walker M, Liggins GL.** Determinations of expected concentration ranges for lipoproteins Al and B in human serum samples. *Clin Chem* 1982; **28**: 1595.
59. **Maciejko JJ, Holmes DR, Kottke BA, et al.** Apolipoprotein Al as a marker of angiographically assesed coronary artery disease. *N Engl J Med* 1983; **309**: 385-389.
60. **Kottke BA, Zinsmeister AR, Holmes DR, et al.** Apolipoproteins and coronary artery disease. *Mayo Clinic Proceeding* 1986; **61**: 313-320.
61. **Freedman DS, Srinivasan SR, Shear CL.**The relation of Apolipoproteins Al y B in children to parental myocardial infarction. *N Eng J Med* 1986;**315**:721-726.
62. **Ordovas JM, Schaefer EJ, Salem D, et al.** Apolipoprotein Al gene polymorphism associated with premature coronary artery disease and familial hypoalphalipoproteinemia. *N Engl J Med* 1986; **314**: 671-677.
63. **Norum RA, Lakier JB, Goldstein S, et al.** Familial deficiency of apolipoproteins Al and Cm and precocious coronary artery disease. *New Engl J Med* 1982; **306**: 1513-1519.
64. **Cambien F, Warnet JM, Jacqueson A, et al.** Relation of parental

- history of early myocardial infarction to the level of apoprotein B in men. *Circulation* 1987; **2**: 266-271.
65. **Hegele RA, Shin Huang L, Herbert PN, et al.** Apolipoprotein B gene DNA polymorphisms associated with myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986; **315**: 1509-1515.
 66. **Durrington PN, Hunt L, Ishola M, et al.** Serum apolipoproteins A1 y B and lipoproteins in middle aged men with and without previous myocardial infarction. *Br Heart J* 1986; **56**: 206-212.
 67. **Avogaro P, Gazzolato G, Bittolo G, Quinci GB.** Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis. *Lancet* 1979; 901-903.
 68. **Durrington PN, Bolton CH, Hartog M.** Serum and lipoprotein B levels in normal subjects and patients with hiperlipoproteinaemia. *Clin Chem* 1978; **82**: 151-160.
 69. **Mount JN, Kearney AM, Rosseneu M, Slavin BM.** Immunosorbent assays for serum apolipoproteins A1 y B using Cobas Biocentrifugal analyser. *J Clin Pathol* 1988; **41**: 471-474.