

Overzichten

De atherogene rol van triglyceriden, LDL- en HDL-subfracties

D.W. SWINKELS¹ en P.N.M. DEMACKER²

Plasmatriglyceriden worden zelden als onafhankelijke risicofactor aangemerkt voor hart- en vaatziekten bij multivariate epidemiologische studies. Toch zijn er potentiële biologische mechanismen voor een causale rol van triglyceriden in de pathogenese van atherosclerose. Vooral de postprandiale triglyceriden, verrijkt met cholesterylesters in de vorm van chylomicron- en VLDL-remnants, lijken atherogeen te zijn. Daarnaast gaan hoge triglyceridenspiegels gepaard met de dominante aanwezigheid van kleine LDL-deeltjes en een lage concentratie van het HDL-cholesterol. Zowel deze kleine LDL-partikels als een laag HDL-cholesterol zijn geassocieerd met een toegenomen risico op hart- en vaatziekten, maar of deze associatie een directe relatie betreft blijft duister. Klein LDL bindt minder goed aan de LDL-receptor en is bovendien minder goed bestand tegen oxidatieve stress. Dit zou impliceren dat het in de pathogenese van atherosclerose toch om LDL draait en niet om de triglyceriden. Ook bij het bestuderen van HDL gaat het om de vraag of het HDL gerelateerd is aan het risico op hart- en vaatziekten, en zo ja welke subfractie daarvoor verantwoordelijk is. Epidemiologische gegevens zijn niet eensluidend maar vooral de relatie van een laag HDL₂, bepaald met ultracentrifugatie of gradiënt-gelelektroforese, met het ontstaan van hart- en vaatziekten kreeg aandacht. Ook bleek het HDL-deeltje rijk aan apo-AI, zoals geïsoleerd met immunoaffiniteitschromatografie, anti-atherogeen te zijn.

In het navolgende review zal meer inzicht worden gegeven in de bepaling van LDL- en HDL-subfracties en in hun betekenis bij het ontstaan van atherosclerose. Aandacht zal worden besteed aan de vraag of deze invloed direct of indirect via het triglyceridenmetabolisme wordt uitgeoefend.

Trefwoorden: atherosclerose, triglyceriden, postprandiale triglyceriden, LDL-subfracties, HDL-subfracties

Het merendeel van het cholesterol in het plasma (circa 75%) bevindt zich in de "low-density"-lipoproteïnen (LDL), ongeveer 20% in de "high-density"-lipo-

proteïnen (HDL) en kleinere hoeveelheden in "very-low-density"-lipoproteïnen (VLDL) en chylomicronen. Men spreekt in dit verband over ongunstig en gunstig cholesterol. De klinisch gangbare opvatting is dat LDL atherogeen is en dat het risico op atherosclerose het beste kan worden ingeschat aan de hand van de meting van het LDL- en HDL-cholesterolgehalte.

De triglyceriden bevinden zich in nuchtere toestand voornamelijk in de VLDL, die gesynthetiseerd worden door de lever. De triglyceriden afkomstig uit de voeding worden getransporteerd in de chylomicronen. Ten gevolge van hun korte halfwaardetijd zijn ze na 12 uur vasten niet meer aantoonbaar bij een normaal functionerend chylomicronmetabolisme. In de postprandiale fase worden de triglyceriden van zowel chylomicronen en VLDL gehydrolyseerd onder invloed van het endotheliaal gebonden enzym lipoproteïnolipase. Hierbij worden kleinere deeltjes gevormd, de chylomicron- en VLDL-remnants genaamd, die atherogeen zijn zoals blijkt bij type III hyperlipidemie (classificatie van Fredrickson) (1), en familiale gecombineerde hyperlipidemie (2) waar een deel van de patiënten verhoogde triglyceridenspiegels hebben met voortijdige atherosclerose.

Triglyceriden: een afhankelijke of onafhankelijke risicofactor voor atherosclerose?

Epidemiologie

Epidemiologische studies, bestaande uit zowel prospectieve als uit case-control studies, laten in meerderheid een (univariate) statistische relatie zien tussen de plasmatriglyceridenconcentratie en de prevalentie van hart- en vaatziekten (3-6). Wanneer echter bij multivariate analyse-technieken behalve de plasmatriglyceriden ook andere lipiden en lipoproteïnen (met name HDL-cholesterol) in de analyse worden betrokken, blijken de plasmatriglyceriden vrijwel nooit een onafhankelijke risicofactor.

Multivariate technieken leiden echter tot een onderschatting van het risico op hart- en vaatziekten ten gevolge van triglyceriden (7). Er is immers enerzijds een grote intra-individuele variatie in de plasmatriglyceriden en anderzijds bestaat er een sterke negatieve correlatie met het HDL-cholesterol. Gezien deze sterke link tussen HDL en triglyceriden in het lipidenmetabolisme is HDL-cholesterol een betrouwbare index van triglyceridenconcentratie en -metabolisme op de lange termijn en aldus lijkt het HDL-cholesterol voor de risicoschatting op atherosclerose een betere indicator te kunnen zijn dan een enkele triglyceridenmeting.

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Laboratorium Inwendige Geneeskunde², AZN St. Radboud, Nijmegen

Correspondentie: Mw. Dr. D.W. Swinkels, Academisch Ziekenhuis Nijmegen St. Radboud, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 9101, 6500 HB, Nijmegen.
Ingekomen: 28.09.95

Vanuit deze optiek is een laag HDL-cholesterol dus geen directe (=onafhankelijke) risicofactor. In het navolgende wordt een aantal mogelijke atherogene mechanismen van hypertriglyceridemie besproken.

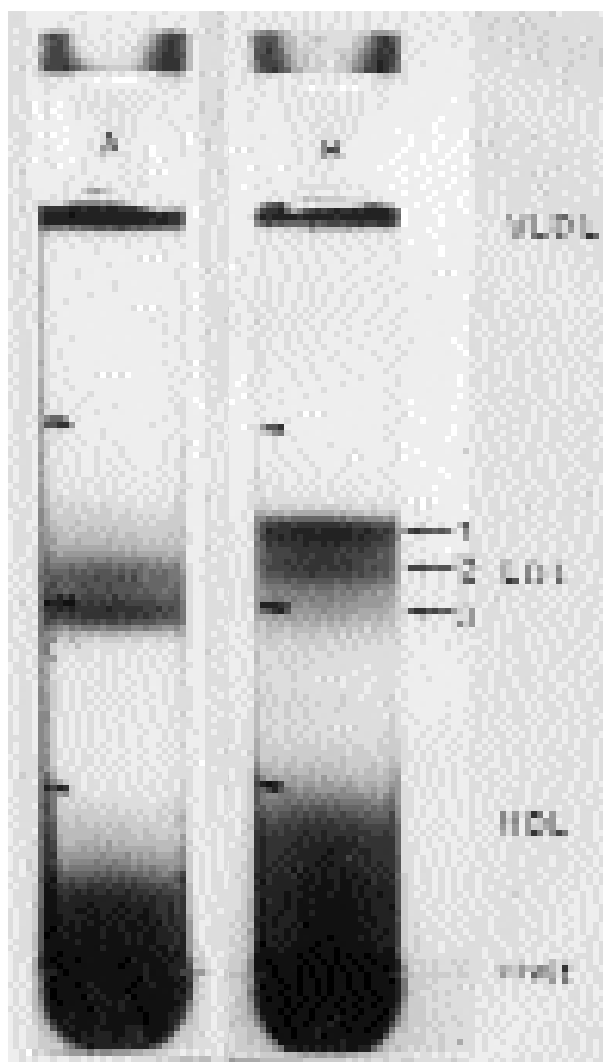
Triglyceriden en postprandiale hypertriglyceridemie

De laatste jaren stapelen de bewijzen zich op dat postprandiale hypertriglyceridemie in de atherogenese een belangrijke rol speelt in vergelijking met de nuchtere spiegels (8-17). Een relatie tussen atherosclerose en postprandiale hyperlipidemie is al veel langer bekend (8,16) maar werd tot nu toe gezien als secundair aan een verhoogde nuchtere triglyceridenpiegel. Immers, de postprandiale hypertriglyceridemie correleert met nuchtere triglyceridenconcentraties en HDL-cholesterol.

Drie onderzoeksgroepen beschrijven de postprandiale plasma-lipiden respons bij patiënten met coronaire vaatlijden en controles (9-11). In deze studies werd een toename in de tijd van de verwerking van postprandiaal geproduceerde triglyceriderijke partikels waargenomen bestaande uit chylomicron- en VLDL-remnants. Multivariate analyse bij de meest recente van deze studies leerde dat de hoogte van de postprandiale hypertriglyceridemie een onafhankelijke risicofactor is voor de aan- of afwezigheid van coronaire stenoses (11). Het belang van postprandiale hypertriglyceridemie wordt verder ondersteund door de resultaten van een recente retrospectieve Zweedse studie (14) waarbij angiografische progressie van coronaire atherosclerose bij overlevenden van een myocardinfarct niet kon worden verklaard door het HDL-cholesterol maar wel door het aantal postprandiale kleine chylomicronremnants.

In een poging de relatie van coronaire vaatlijden met een gestoord triglyceridentransport te verklaren is de recente "triglyceriden-intolerantie hypothese" gepostuleerd (13). Volgens deze hypothese wordt atherosclerose toegeschreven aan een verminderde metabole capaciteit van triglyceridenrijke lipoproteïnen, dus van zowel de chylomicronen als van de VLDL, waardoor de concentratie van deze lipoproteïnen postprandiaal in plasma is verhoogd en de verblijftijd in het plasma verlengd wordt. Dit kan leiden tot een toename van cholesterylesters in chylomicronen en VLDL, afkomstig van de LDL en HDL via uitwisselingsprocessen, en daarmee tot de vorming van in potentie atherogene chylomicron- en VLDL-remnants. Mogelijk is postprandiale lipidemie de meest kritische fase van triglyceridentransport en is, naar analogie van de glucosetolerantietest (GTT), de meting van de verwerking van de postprandiale triglyceriden een geschikte tolerantietest voor de metabole capaciteit van triglyceriden (13).

Daarnaast staat de veel oudere "Zilvermit hypothese", waarbij met name de chylomicronen en hun remnants in verband worden gebracht met postprandiale atherogenese (8). Door de postprandiale competitie tussen de chylomicronen en de VLDL voor het zelfde verwijderingsmechanisme worden de chylomicron-remnants vertraagd geklaard, waarmee de kans op opname door de macrofagen van de arteriële vaatwand en dus de schuimcelvorming wordt vergroot.



Figuur 1. De verdeling van het LDL over drie subfracties bij twee personen na dichtheidsgradiënt ultracentrifugatie. De subfracties verzamelen zich in het gebied dat overeenkomt met hun eigen dichtheid. 1, 2 en 3 representeren respectievelijk LDL1, LDL2 en LDL3. A: zogenoemd "zwaar" LDL-subfractiepatroon met relatief klein en "dense" LDL (20,3% LDL1, 34,8% LDL2 en 44,9% LDL3). B: "licht" LDL-subfractiepatroon (42,6% LDL1, 27,6% LDL2 en 29,9% LDL3).

Triglyceriden en kleine LDL-deeltjes

Met behulp van gradiënt-gelelektroforese en dichtheidsgradiënt ultracentrifugatie is aangetoond dat LDL-deeltjes niet allemaal hetzelfde zijn maar verschillen in grootte, dichtheid en samenstelling (figuur 1) (18-22). De verdeling van het LDL over subfracties, het LDL-subfractiepatroon, is het resultaat van een combinatie van genetische factoren en omgevingsinvloeden (20,23-25). In diverse klinische studies worden deze kleine "densere" LDL-deeltjes geassocieerd met het ontstaan van hart- en vaatziekten (26-29). Dit geldt ook voor ziekten als "hyperapobetalipoproteïnemie", "atherogenic lipoprotein phenotype" en "familiaire gecombineerde hyperlipidemie", die alle gekenmerkt worden door een overmaat aan deze kleine LDL-deeltjes (30-32). Kleine LDL-deeltjes worden in vitro sneller geoxydeerd, hetgeen in vivo zou kunnen resulteren in snelle ongeremde opname door de macrofagen, leidend tot schuimcelvorming (33,34).

Daarnaast worden de kleine LDL-deeltjes in vitro slechter gekataboliseerd door levercellen (35), fibroblasten (36) en macrofagen (37). Dit verklaart het langere verblijf in de bloedbaan en vergroot de kans op oxydatie (38,39).

De kleine "dense" LDL-deeltjes (met een verhoogde cholesterol/apoB-ratio) worden vooral bij patiënten met hypertriglyceridemie gevonden (26). Het bepalen van de triglyceriden zou een middel kunnen zijn om patiënten met kleine LDL-deeltjes op te sporen. Het lijkt er dus op dat triglyceriden geen onafhankelijke risicofactor voor atherosclerose vormen maar dat de atherogeniciteit van de triglyceriden wordt veroorzaakt door de samenhang met het voorkomen van de atherogene kleine LDL-deeltjes.

Directe toxiciteit van oppervlaktefragmenten van triglyceridenrijke chylomicrons en VLDL na lipolyse

Oppervlaktefragmenten van triglyceridenrijke lipoproteïnen, die in plasma vrijkomen na lipolyse (VLDL en chylomicron-remnants) zijn in combinatie met een laag HDL in vitro cytotoxisch gebleken voor macrofagen (40). Niet alleen de nuchtere maar ook de postprandiale hypertriglyceridemie zouden daarmee in vivo atherogeen kunnen zijn.

Triglyceriden en trombogenese

Hoge concentraties triglyceriden beïnvloeden de stolling. Er is een verschuiving naar een trombogene toestand met toename van het risico op hart- en vaatziekten. Er treedt een stijging op van de plasmaspiegels van plasminogeenactivatorinhibitor- en van factor VII. Daarnaast is er meer factor X-activiteit en neemt de productie van fibrinogeen en trombine onder invloed van lipidperoxiden toe (review in 5).

Triglyceriden en HDL

Er is een sterke negatieve correlatie tussen het HDL-cholesterolgehalte en de plasmatriglyceridenconcentratie. Daarbij zijn er aanwijzingen dat de triglyceridenconcentraties het HDL-cholesterol bepalen en niet andersom (13). In vitro studies laten echter zien dat HDL in staat is het teveel aan cholesterol van de weefsels naar de lever af te voeren (41,42). Een laag HDL zou daarmee wel een onafhankelijke risicofactor voor atherosclerose kunnen zijn. Voor dit "omgekeerde cholesteroltransport" zijn echter nog geen harde in vivo bewijzen.

HDL-subfracties en atherosclerose

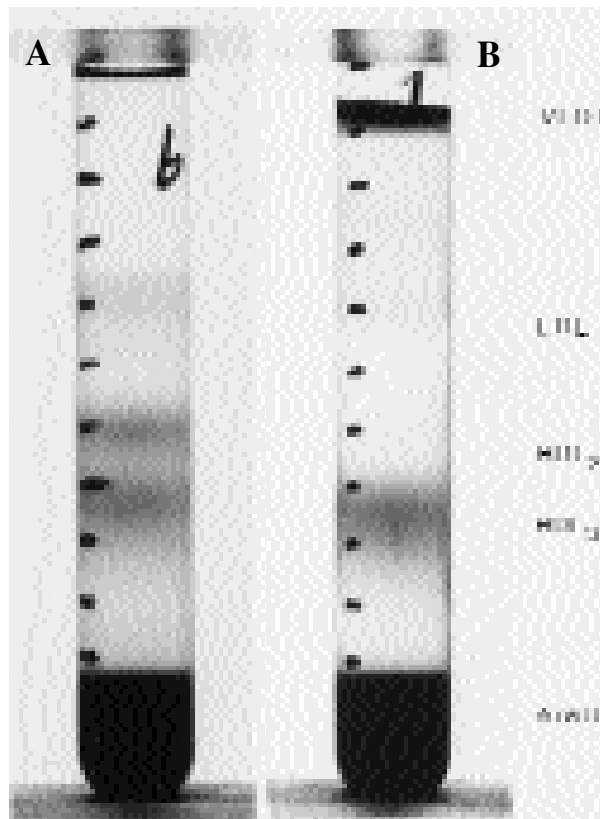
HDL vormt een heterogeen gezelschap van deeltjes die verschillen in grootte, dichtheid, samenstelling en metabole eigenschappen (figuur 2) (22,43,44). Al jaren wordt getracht de subfractie te identificeren met een groter anti-atherogeen vermogen dan totaal HDL-cholesterol.

Gedurende de laatste twee decennia zijn diverse methodieken gebruikt voor de scheiding van HDL-subfracties en de belangrijkste eiwitcomponenten waaronder met name verscheidene ultracentrifugatiemethodieken, tweevoudige precipitatie, polyacrylamide gradiëntelektroforese, immuno-elektroforese en affiniteitschromatografie (44-48). Ultracentrifugatie is de meest

klassieke methode, waarbij HDL in twee subfracties gescheiden wordt: HDL₂ en HDL₃ met dichtheidsranges van respectievelijk 1,063-1,100 en 1,100-1,185 g/ml (45,49).

Met ultracentrifugatie als referentie werden later dubbele precipitatie-technieken beschreven. In een eerste precipitatie-stap worden de deeltjes die apoproteïne B bevatten (VLDL en LDL) geprecipiteerd en HDL-cholesterol wordt gemeten in het supernatant. In een tweede precipitatie-stap wordt vervolgens HDL₂ geprecipiteerd, waarna het HDL₃ in het supernatant kan worden bepaald (44,46).

Met behulp van vooral de conventionele ultracentrifugatie-technieken maar ook met selectieve precipitatie zijn er meerdere, meestal retrospectieve, studies verricht naar de diagnostische kracht van de HDL₂- en HDL₃-cholesterolbepaling bij overlevenden van een myocardinfarct of bij patiënten met angiografisch vastgelegde atherosclerose en controle-personen. De studies lieten in de meeste gevallen zien dat zowel HDL₂ als HDL₃ geassocieerd zijn met atherosclerotische hart- en vaatziekten. In een aantal studies is de associatie met hart- en vaatziekten hoger voor het HDL₂ dan voor het HDL₃ (21,44,49,50), maar dit wordt echter niet bevestigd door de resultaten van andere studies (21,44,51-53). Op grond van deze epidemiologische studies lijkt totaal HDL-cholesterol een minstens even goede indicator te zijn voor de kans op hart- en vaatziekten dan de subfracties HDL₂ en HDL₃ (44,51). Daarbij komt dat de absolute intra-in-



Figuur 2. De verdeling van het HDL over twee subfracties bij twee personen na dichtheidsgradiënt ultracentrifugatie. A: HDL bestaat uit zowel HDL₂ als HDL₃. B: HDL bestaat voornamelijk uit HDL₃.

dividuele variatie in zowel het HDL₂ als het HDL₃ gerelateerd is aan het totaal HDL-cholesterol. Dit impliceert dat bepalen van subfracties ook theoretisch geen meerwaarde zou hebben: een stijging van een van beide subfracties is gunstig of de stijging nu plaats vindt in de HDL₃ of in de HDL₂ (54).

Recent worden HDL-subfracties ook gescheiden met behulp van polyacrylamide gelelektroforese. Dit resulteert in een andere indeling van HDL-subfracties: binnen de HDL₂ en HDL₃ kunnen respectievelijk de subfracties HDL_{2a} en HDL_{2b} en de subfracties HDL_{3a}, HDL_{3b} en HDL_{3c} worden onderscheiden. De eerste epidemiologische studies met deze techniek duiden HDL_{2b} en HDL_{3b} als de variabele factoren: een overmaat van het lichte HDL (HDL_{2b}) en een ondermaat van de meest "dense" HDL (HDL_{3b}) kan als gunstig worden beschouwd voor de atherogenese (43,47).

Ook met immunologische methodieken kunnen tegenwoordig de HDL-fracties gescheiden worden op grond van hun apolipoproteïnen-samenstelling. Zo worden met behulp van immuno-affiniteitschromatografie HDL-deeltjes geïdentificeerd die alleen apolipoproteïne A-I (apoA-I) bevatten, de zogenaamde (Lp)A-I-only deeltjes, en deeltjes die zowel apoA-I (LpA-I) als apoA-II (LpA-II) bevatten (48). Daarbij wordt van LpA-I-only vermoed dat het vooral met HDL₂ is geassocieerd, terwijl LpA-I en LpA-II deeltjes met name in het HDL₃ aanwezig zijn. Epidemiologische studies bij patiënten met atherosclerotische hartziekten en controles leren dat vooral aan het LpA-I anti-atherogene eigenschappen kunnen worden toegekend (21,48). Dit mogelijke anti-atherogene effect voor LpA-I wordt nog eens bevestigd door de lage concentraties in geografische gebieden met een hoge sterfte aan myocardinfarct en hoge spiegels bij hoogbejaarden (21,48).

Al met al is de klinische betekenis van de detectie van HDL-subfracties nog niet voldoende bekend. Op het moment wordt er onderzoek gedaan met researchmethoden voor de scheiding van HDL-subfracties, waaronder met name immuno-elektroforese. Het is nog onduidelijk of deze recente methodieken de dokter helpen in het voorspellen en behandelen van atherosclerose.

Schatting van het risico op atherosclerose in de klinische-chemische praktijk

Totaal cholesterol en LDL-cholesterol zijn nog steeds de belangrijkste risicoparameters, die inzicht geven in de mate van cholesterolafzetting in de vaatwand. Daarnaast is het HDL-cholesterol belangrijk als een parameter voor het "reverse cholesterol transport" (dwz het "oplossen" van cholesterol uit de atherosclerotische plaques en het transport daarvan naar de lever) en als betrouwbare index van de triglyceridenconcentratie en -metabolisme op de lange termijn.

Nuchtere plasmatriglyceriden zijn potentieel relevant omdat een verhoging aanduidt dat het enzym lipoproteïnelypase niet goed werkt. Een laag HDL-cholesterol is hier het gevolg van. Tevens is er dan kans op ophoping van atherogene chylomicron- en VLDL-remnants en "dense" LDL. De klinisch-chemische waarde van de nuchtere plasma triglyceriden is echter

beperkt vanwege de grote biologische variatie. In de toekomst zou de bepaling van de postprandiale triglyceridenspiegels na een gestandaardiseerde maaltijd wellicht een geschikte tolerantietest zijn voor de metabole capaciteit van triglyceriden en dus een verbetering zijn in vergelijking met de bepaling van de nuchtere triglyceridenspiegels. Verhoogde postprandiale plasmatriglyceriden verhogen immers de kans op voortijdige atherosclerose (8-17).

Bepaling van de verdeling van het LDL over de diverse subfracties is in onze ogen alleen zinvol in een researchsetting. Op grond van de concentratie van plasmacholesterol, plasmatriglyceriden en HDL-cholesterol kan deze verdeling immers voor een groot deel worden voorspeld (20).

Ook de detectie van HDL-subfracties met ultracentrifugatie of dubbele precipitatie draagt niet bij aan het opsporen van patiënten met een grotere kans op vroegtijdige atherosclerose. Het is nog onduidelijk of meer recente detectiemethodieken (47,48) hier wezenlijke verandering in zullen brengen.

Literatuur

1. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 1-21.
2. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary artery disease II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973; 52: 1544-1568.
3. Hulley SB, Rosenman RH, Bawol RD, Brand RJ. Epidemiology as a guide to clinical decisions. The association between triglyceride and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1980; 302: 1383-1389.
4. Avins AL, Haber RJ, Hulley SB. The status of hypertriglyceridemia as a risk factor for coronary heart disease. *Clin Lab Med* 1989; 9: 153-168.
5. Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arteriosclerosis* 1991; 11: 2-14.
6. Grundy SM, Vega GL. Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1992; 152: 28-34.
7. Abbott RD, Carroll RJ. Interpreting multiple logistic regression coefficients in prospective observational studies. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 830-836.
8. Zilverman DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979; 60: 473-485.
9. Simpson HS, Williamson CM, Olivercrona T, Pringle S, Maclean J, Lorimer JR, Bonnefous S et al. Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1990; 85: 193-202.
10. Groot PHE, Stiphout WAHJ van, Krauss XH, Jansen H, Tol A van, Ramshorst E van, Chin-On S et al. Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1991; 11: 653-662.
11. Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, Mühlberger V, Knapp E, Kay Dunn J, Gotto AM et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1992; 12: 1336-1345.
12. Slyper AH. A fresh look at the atherogenic remnant hypothesis. *Lancet* 1992; 340: 289-291.
13. Miesenbock G, Patsch JR. Postprandial hyperlipidemia: the search for the atherogenic lipoprotein. *Curr Opin Lipid* 1992; 3: 196-201.
14. Karpe F, Bard JM, Steiner G, Carlson LA, Fruchart JC, Hamsten A. HDLs and alimentary lipemia. *Studies in men*

- with previous myocardial infarction at a young age. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1993; 13: 11-22.
15. Havel RJ. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *Curr Opin Lipid* 1994; 5: 102-109.
 16. Cohn JS. Postprandial lipid metabolism. *Curr Opin Lipid* 1994; 5: 185-190.
 17. Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem* 1995; 41: 153-158.
 18. Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* 1982; 23: 97-104.
 19. Swinkels, DW, Hak-Lemmers HLM, Demacker PNM. Single spin density gradient ultracentrifugation method for the detection and isolation of light and heavy low density lipoprotein subfractions. *J Lipid Res* 1987; 28: 1233-1239.
 20. Swinkels DW, Demacker PNM, Hendriks JCM, van 't Laar A. Low density lipoprotein subfractions and relationship to other risk factors for coronary artery disease in healthy individuals. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 604-613.
 21. Dormans TPJ, Swinkels DW, de Graaf J, Hendriks JCM, Stalenhoef AFH, Demacker PNM. Single spin density gradient ultracentrifugation versus gradient gel electrophoresis: a comparison of two methods for detection of low density lipoprotein heterogeneity. *Clin Chem* 1991; 37: 853-858.
 22. Roheim PS, Asztalos BF. Clinical significance of lipoprotein size and risk for coronary atherosclerosis. *Clin Chem* 1995; 41: 147-152.
 23. Austin MA, King MC, Vranizan M, Newman B, Krauss RM. Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns: results of complex segregation analysis. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 838-846.
 24. de Graaf J, Swinkels DW, de Haan AFJ, Demacker PNM, Stalenhoef AFH. Both inherited and environmental exposure determine the low-density lipoprotein-subfraction pattern distribution in healthy dutch families. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 1295-1310.
 25. de Graaf J, Swinkels DW, Demacker PNM, de Haan AFJ, Stalenhoef AFH. Differences in low density lipoprotein subfraction profile between oral contraceptive users and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 197-202.
 26. Crouse JR, Parks JS, Schey HM, Kahl FR. Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. *J Lipid Res* 1985; 26: 566-574.
 27. Swinkels DW, Demacker PNM, Hendriks JCM, Breninkmeyer BJ, Stuyt PMJ. The relevance of a protein enriched low density lipoprotein as a risk factor for coronary heart disease in relation to other known risk factors. *Atherosclerosis* 1989; 77: 59-67.
 28. Austin MA, Breslow JL, Hennekens Ch, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988; 260: 1917-1921.
 29. Krauss RM. Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipid* 1994; 5: 339-349.
 30. Sniderman A, Shapiro S, Marpole D, Skinner B, Teng B, Kwiterovich PO. Association of coronary atherosclerosis with hyperapobetalipoproteinemia (increased protein but normal cholesterol levels in human plasma low density (β) lipoproteins). *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 604-608.
 31. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82: 495-506.
 32. Brunzell JD, Albers JJ, Chait A, Grundy SM, Groszek E, McDonald GB. Plasma lipoproteins in familial combined hyperlipidemia and monogenic familial hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 1983; 24: 147-155.
 33. de Graaf J, Hak-Lemmers HLM, Hectors MPC, Demacker PNM, Hendriks JCM, Stalenhoef AFH. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arteriosclerosis* 1991; 11: 298-306.
 34. Tribble DL, van den Berg JJM, Motchnik PA, Ames BN, Lewis DM, Chait A, Krauss RM. Oxidative susceptibility of low density lipoprotein subfractions is related to their ubiquinol-10 and alpha-tocopherol content. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1183-1187.
 35. Swinkels DW, Hendriks JCM, Demacker PNM, Stalenhoef AFH. Differences in metabolism in three low density lipoprotein subfractions in Hep G2 cells. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1047: 212-222.
 36. Kleinman Y, Eisenberg S, Oschry Y, Gavish D, Stien O, Stein Y. Defective metabolism of hypertriglyceridemic low density lipoprotein in cultured human fibroblasts. *J Clin Invest* 1985; 75: 1796-1803.
 37. Graaf J de, Hendriks JCM, Swinkels DW, Demacker PNM, Stalenhoef AFH. Differences in LDL receptor-mediated metabolism of three low density lipoprotein subfractions by human monocyte-derived macrophages: impact on the risk for atherosclerosis. *Artery* 1993; 20: 201-230.
 38. Teng D, Sniderman A, Krauss RM, Soutar AK, Thompson GR. Metabolic basis of hyperapobetalipoproteinemia; turnover of apolipoprotein B in low density lipoprotein and its precursors and subfractions compared with normal and familial hypercholesterolemia. *J Clin Invest* 1986; 77: 663-672.
 39. Eisenberg S. Lipoprotein abnormalities in hypertriglyceridemia: significance in atherosclerosis. *Am Heart J* 1987; 555-561.
 40. Chung BH, Segrest JP, Smith K, Griffin FM, Brouillette C. Lipolytic surface remnants of triglyceride-rich lipoproteins are cytotoxic to macrophages but not in the presence of high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1989; 83: 1363-1374.
 41. Mahley RW, Innerarity TL. Lipoprotein receptors, and cholesterol homeostasis. *Biochem Biophys Acta* 1983; 737: 197-222.
 42. Barter P. High-density lipoproteins and reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipid* 1993; 3: 210-217.
 43. Skinner ER. High-density lipoprotein subclasses. *Curr Opin Lipid* 1994; 5: 241-247.
 44. Wilson PWF. Relation of high-density lipoprotein subfractions and apolipoprotein E isoforms to coronary disease. *Clin Chem* 1995; 41: 165-169.
 45. Demacker PN, Van Sommeren-Zondag DF, Stalenhoef AF, Stuyt PM, Van 't Laar A. Ultracentrifugation in swinging-bucket and fixed-angle rotors evaluated for isolation and determination of high-density lipoprotein subfractions HDL₂ and HDL₃. *Clin Chem* 1983; 29: 656-663.
 46. Demacker PNM, Hak-Lemmers HLM, Hijmans AGM, Baadenhuysen H. Evaluation of the dual-precipitation method for determination of cholesterol in high-density lipoprotein subfractions HDL₂ and HDL₃ in serum. *Clin Chem* 1986; 32: 819-825.
 47. Williams PT, Krauss RM, Vranizan KM, Stefanick ML, Wood PDS, Lindgren FT. Associations of lipoproteins and apolipoproteins with gradient gel electrophoresis estimates of high density lipoprotein subfractions in men and women. *Arteriosclerosis* 1992; 12: 232-340.
 48. Cheung M, Albers JJ. Characterization of lipoprotein particles by immunoaffinity chromatography: particles containing A-I and A-II and particles containing A-I but no A-II. *J Biol Chem* 1984; 259: 12201-12209.
 49. Gofman JW, Young W, Tandy R. Ischaemic heart disease, atherosclerosis, and longevity. *Circulation* 1966; 34: 679-697.
 50. Avogaro P, Cazzolato G, Bittolo Bon G, Belussi F. Levels and composition of HDL₂, HDL₃ and other major lipoprotein classes in survivors of myocardial infarction. *Artery* 1979; 5: 495-508.

51. Miller NE. Associations of high-density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischaemic heart disease and coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 1987; 113: 589-597.
52. Buring JE, O'Connor GT, Goldhaber SZ, Rosner B, Herbert PN, Blum CB, Breslow JL et al. Decreased HDL₂ and HDL₃ cholesterol, apo A-I and apo A-II, and increased risk of myocardial infarction. *Circulation* 1992; 85: 22-29.
53. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991; 325: 373-381.
54. Demacker PNM, Baadenhuysen H, Stuyt PMJ, Laar A van 't . Studies on the relationship between the cholesterol content in total high density lipoprotein and its subfractions, HDL₂ and HDL₃ in normo- and hyperlipidemic subjects. *Atherosclerosis* 1986; 61: 225-229.

Summary

The atherogenic role of triglycerides and the subfractions of LDL and HDL. Swinkels DW and Demacker PNM. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 41-46.

Epidemiologic studies using multivariate techniques seldomly recognize plasma-triglycerides as an independent risk factor for coronary heart disease (CHD). However, diverse potential

mechanisms could explain a causal role of triglycerides in the pathogenesis of atherosclerosis. Especially the postprandial triglycerides, enriched with cholesterylesters, in the form of chylomicron- and VLDL-remnants, appear to be atherogenic. In addition, elevated triglyceride levels are associated with the predominance of small LDL particles and a low concentration of HDL cholesterol. Both small LDL particles and low HDL cholesterol concentration are associated with premature CHD. Whether this association is an independent relation remains unclear. Small LDL has diminished affinity for the LDL-receptor and is more susceptible to oxidative modification, as compared to large LDL. This might implicate that not triglycerides but (small) LDL plays the essential role in the pathogenesis of CHD. The same holds true for HDL, whether it is related to the risk for CHD, and if so which HDL subfraction might be responsible. Although epidemiological data are not unequivocal, the relationship between decreased HDL₂ levels, as determined by ultracentrifugation and gradient gel electrophoresis, and the susceptibility for CHD has been emphasized. Also, the HDL subfraction enriched with apoA-I, isolated by immuno-affinity chromatography, is decreased in CHD.

The methods for determination of LDL and HDL subfractions will be reviewed. The possible role of both LDL and HDL subfractions in the pathogenesis of atherosclerosis, either direct or indirect through the triglyceride metabolism, will be discussed upon.

Key-words: atherosclerosis; triglycerides; postprandial triglycerides; LDL subfractions; HDL subfractions