

El ácido nicotínico aumenta el transporte celular de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad en pacientes con hipoalfoalipoproteinemia

CATALINA FIGUEROA¹, KATHERINE DROPELMANN¹,
VERÓNICA QUIÑONES¹, LUDWIG AMIGO²,
CAMILA MENDOZA¹, VALENTINA SERRANO¹,
MARGARITA VÉJAR³, ALBERTO MAIZ¹, ATTILIO RIGOTTI^{1,4}

Nicotinic acid increases cellular transport of high density lipoprotein cholesterol in patients with hypoalfoalipoproteinemia

Background: Plasma high density lipoproteins (HDL) are involved in reverse cholesterol transport mediated by the scavenger receptor class B type I (SR-BI). Nicotinic acid increases HDL cholesterol levels, even though its specific impact on SR-BI dependent-cellular cholesterol transport remains unknown. **Aim:** To determine the effect of nicotinic acid on HDL particle functionality in cholesterol efflux and uptake mediated by SR-BI in cultured cells in hypoalfoalipoproteinemic patients. **Material and Methods:** In a pilot study, eight patients with low HDL (≤ 40 mg/dL) were treated with extended release nicotinic acid. HDL cholesterol and phospholipid levels, HDL2 and HDL3 fractions and HDL particle sizes were measured at baseline and post-therapy. Before and after nicotinic acid treatment, HDL particles were used for cholesterol transport studies in cells transfected with SR-BI. **Results:** Nicotinic acid treatment raised total HDL cholesterol and phospholipids, HDL2 levels as well as HDL particle size. Nicotinic acid significantly increased HDL cholesterol efflux and uptake capacity mediated by SR-BI in cultured cells. **Conclusions:** Nicotinic acid therapy increases SR-BI-dependent HDL cholesterol transport in cultured cells, establishing a new cellular mechanism by which this lipid-lowering drug appears to modulate HDL metabolism in patients with hypoalfoalipoproteinemia.

(Rev Med Chile 2015; 143: 1097-1104)

Key words: Cholesterol ester transport proteins; High density lipoproteins; Niacin.

Los niveles séricos de colesterol transportado en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se correlacionan inversamente con el riesgo cardiovascular aterosclerótico¹⁻³. Entre diferentes funciones fisiológicas^{4,6}, las partículas de HDL remueven el exceso de colesterol de los tejidos periféricos, transportándolo a través del plasma

y entregándolo al hígado para su excreción biliar. Este proceso se conoce como transporte reverso del colesterol y sería uno de los principales mecanismos que explican el efecto antiaterogénico de las HDL^{7,8}.

Estudios *in vitro* y en animales han demostrado que el receptor *scavenger* clase B tipo I (SR-BI)⁹

¹Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

²Departamento de Gastroenterología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

³Departamento de Cardiología, Facultad de Medicina, Sede Oriente, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

⁴Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Financiamiento: Proyectos FONDECYT Regular N°1070634 y N°1110712, Merck S.A. Chile y Dirección de Investigación, Escuela de Medicina, Universidad Católica de Chile.

Conflictos de intereses: A. Rigotti recibió financiamiento para investigación de Merck Serono, fue miembro del Consejo Asesor en Aterosclerosis de Merck Co. y asesora en el campo de las dislipidemias e hipolipemiantes a Merck Sharpe & Dohme. Los demás autores declararon no tener conflictos de intereses.

Recibido el 15 de octubre de 2014, aceptado el 2 de julio de 2015.

Correspondencia a:
Dr. Attilio Rigotti
Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Marcoleta #367 (interior) 4° Piso, Santiago, 8330024, Chile. Teléfono: 56-2-23543832. arigotti@med.puc.cl

participa en el transporte reverso de colesterol, facilitando su eflujo desde las células periféricas hacia las partículas de HDL¹⁰ y mediando la captación de colesterol desde las HDL hacia los hepatocitos¹¹. De hecho, SR-BI controla el metabolismo de HDL y tiene efecto antiaterogénico en ratones¹²⁻¹⁴ y modula los niveles de colesterol HDL en humanos^{15,16}, sugiriendo que alteraciones en su expresión y/o función podrían ser relevantes también en aterosclerosis humana.

Por otro lado, el ácido nicotínico (AN) modula el metabolismo lipoproteico, aumentando el colesterol HDL en pacientes con bajos niveles de esta lipoproteína (hipoalfalipoproteinemia)¹⁷⁻²¹, y determinando acumulación de partículas de HDL2, una subclase de HDL de mayor tamaño²²⁻²⁴, como consecuencia de menor degradación hepática²⁵. Adicionalmente, niveles elevados de HDL2 se han asociado a menor riesgo cardiovascular aterosclerótico²⁶⁻²⁸. Así, estas partículas de HDL de mayor tamaño estarían más disponibles para participar en las diferentes etapas del transporte reverso de colesterol mediado por el receptor de HDL SR-BI.

Por lo tanto, proponemos que el tratamiento con AN mejora la capacidad funcional de las HDL como partículasceptoras y/o donantes de colesterol en células que expresan SR-BI. Este estudio clínico piloto evaluó el efecto del AN sobre los niveles, el tamaño, la composición lipídica y la funcionalidad de las partículas de HDL en los procesos de eflujo y captación celular de colesterol mediados por SR-BI en pacientes hipoalfalipoproteinémicos.

Métodos

Diseño

Sub-estudio piloto dentro de un protocolo clínico con diseño pareado (sin grupo control no intervenido) que analizó la seguridad y eficacia del AN de liberación extendida (ANLE) en pacientes con hipoalfalipoproteinemia. Ocho pacientes con colesterol HDL ≤ 40 mg/dl fueron tratados por vía oral durante 16 semanas con ANLE (titulado mensualmente hasta alcanzar 2 g/día). Durante todo el estudio, los pacientes podían recibir dosis estables de estatinas, antihipertensivos y anti diabéticos. La droga de intervención (Niaspan^{MR}) fue proporcionada por Merck S.A. Chile. Cada paciente firmó

un consentimiento informado aprobado previamente por el Comité de Ética en Investigación institucional. Se obtuvieron muestras de sangre basales y post-tratamiento con ANLE de cada paciente, cuyos plasmas se mantuvieron a 4°C o congelados hasta su uso.

Análisis bioquímicos estándares

Los parámetros bioquímicos rutinarios se evaluaron en muestras de sangre antes y después del tratamiento con AN en el laboratorio del Hospital Clínico de nuestra institución.

Mediciones de colesterol y fosfolípidos en HDL total y colesterol HDL2 y HDL3

La fracción total de HDL, así como en las subclases de HDL2 y HDL3 plasmáticas, se aislaron mediante precipitación iónica²⁹ o remoción cromotográfica³⁰ de las lipoproteínas no HDL. El contenido de colesterol total, colesterol no esterificado, ésteres de colesterol y fosfolípidos totales asociados a HDL se cuantificaron mediante métodos estandarizados^{30,31}.

Medición del tamaño de las partículas de HDL

A partir de plasma total, las lipoproteínas no HDL se precipitaron con polietilenglicol (PEG)³². El sobrenadante fue utilizado para la medición del tamaño de las partículas de HDL mediante electroforesis no denaturante³³.

Preparación de HDL para ensayos de transporte celular de colesterol

Después de la precipitación con PEG³², el sobrenadante del plasma que contenía las partículas de HDL se concentró mediante ultrafiltración para luego utilizarlo en los ensayos de transporte celular de colesterol. El contenido de apolipoproteína A-I asociado a HDL se midió mediante ELISA (kit comercial obtenido de ABCAM, Cambridge, MA, EUA).

Cultivo celular y marcación celular con colesterol tritiado

La línea celular IdIA7 no transfectada y aquella que expresa establemente el receptor de HDL SR-BI (IdIA[SR-BI]) fueron obtenidas del Dr. Monty Krieger, Departamento de Biología, MIT (Cambridge, MA, EUA) y se cultivaron como se ha descrito previamente^{10,11}. Para el caso específico del estudio de eflujo de colesterol, las células se

preincubaron por 24 h con medio suplementado con 1 Ci/ml de [³H]-colesterol no esterificado para marcar radioactivamente el contenido intracelular de colesterol¹⁰.

Ensayo de eflujo de colesterol celular dependiente de SR-BI e inducido por HDL

Después de la marcación con [³H]-colesterol, las células sin y con expresión de SR-BI se lavaron con medio de cultivo sin suero y luego se incubaron (por triplicado) a 37°C durante 2 h con medio de eflujo¹⁰ y 100 µl/ml del sobrenadante del plasma post-precipitación con PEG que contenía HDL obtenidas pre- o post-terapia con ANLE. Después de esta incubación, se retiró el medio de eflujo que contenía HDL, se centrifugó y el sobrenadante se utilizó para medir la radiactividad del colesterol tritiado presente en el medio. Además, las células adheridas a la placa de cultivo se lisaron y se emplearon para medir el colesterol celular radioactivo. El eflujo de colesterol se determinó mediante el cálculo del porcentaje de la radiactividad total presente en el ensayo (la suma de la radiactividad de colesterol medida en las células más la radiactividad del medio de eflujo) que se liberó hacia dicho medio durante el período de incubación con HDL¹⁰. El eflujo celular de colesterol dependiente específicamente de SR-BI se obtuvo substrayendo el eflujo mediado por las muestras de HDL pre-o post-AN de cada paciente medido en células ldlA sin SR-BI de aquel eflujo detectado en las células ldlA [SR-BI].

Ensayo de captación celular de colesterol celular dependiente de SR-BI e inducido por HDL

Las células sin y con sobreexpresión de SR-BI se lavaron con medio de cultivo sin suero y después se incubaron en triplicado a 37°C durante 5 h con medio de captación¹¹ y 100 µl/ml del sobrenadante de plasma post-precipitación con PEG que contenía HDL obtenidas pre- o post-terapia con ANLE. Después de esta incubación, se retiró el medio que contenía HDL y las células se enfriaron, lavaron y sometieron a extracciones para mediciones del contenido celular de colesterol total y proteínas¹¹. La captación neta de colesterol se determinó mediante el aumento en el contenido de colesterol celular después de la incubación sin y con HDL y se expresó como µg de colesterol total/mg de proteína celular¹¹. La captación celular de colesterol dependiente específicamente de SR-BI

se estableció substrayendo la captación mediada por las muestras de HDL pre- o post-ANLE de cada paciente medido en las células ldlA sin SR-BI de aquella captación detectada en las células ldlA [SR-BI].

Análisis estadístico

La normalidad de la distribución de los datos obtenidos pre- y post-tratamiento fue evaluada mediante el test de Shapiro-Wilk. Cada paciente corresponde a su propio control para los análisis realizados antes y después del tratamiento con AN. Por ello, la significación de las diferencias observadas se analizó aplicando el test t de Student o de rangos con signo de Wilcoxon para muestras pareadas, según la distribución de las mismas. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con un valor de $p < 5\%$.

Resultados

Las características basales de los pacientes estudiados se muestran en la Tabla 1. La mayoría de los pacientes (6 de 8 casos) reclutados mostraron niveles bajos de colesterol HDL asociados a un metabolismo anormal de la glucosa. Sin embargo,

Tabla 1. Características generales de los pacientes

Demografía	
Género (n, femenino/masculino)	3/5
Edad (años)	58,5 ± 12,2
Peso corporal (kg)	76,5 ± 7,8
Circunferencia de cintura (cm)	93,6 ± 9,1
Índice de masa corporal (kg/m ²)	27,1 ± 2,1
Historia médica previa	
Metabolismo glucídico (n, normal/test de tolerancia alterado/diabetes)	2/2/4
Uso de antidiabéticos (n, no/sí)	3/5
Uso de estatinas (n, no/sí)	3/5
Uso de aspirina (n, no/sí)	1/7
Laboratorio	
Colesterol HDL (mg/dl)	33,2 ± 4,8
Triglicéridos (mg/dl)	222,3 ± 80,2
Colesterol LDL (mg/dl)	109,1 ± 36,3
Glicemia (mg/dl)	108,6 ± 23,0
Hemoglobina glicosilada (%)	6,21 ± 0,7
PCR ultrasensible (mg/L)	1,99 ± 2,6

Los datos se muestran como media ± 1 DE.

todos los pacientes estaban clínicamente estables y sin cambios en su estilo de vida ni terapia farmacológica por al menos 6 semanas pre-estudio ni durante el desarrollo de este protocolo.

Después del tratamiento de estos pacientes con ANLE, se detectaron cambios significativos en los parámetros de HDL. La comparación de los valores observados antes y después del uso de ANLE en cada paciente mostró un aumento promedio significativo de 6,8 mg/dl (IC: 3,04-10,07; $p = 0,0013$), lo que equivale a un alza de 21%, en los niveles totales de colesterol HDL con respecto a la condición basal (Figura 1). Estos cambios se correlacionaron con un aumento proporcional en los niveles de colesterol no esterificado y esterificado presente en las HDL después del tratamiento con ANLE, sin cambio del contenido relativo de ésteres de colesterol (Tabla 2). Por otro lado, el

tratamiento con AN causó un aumento significativo en el contenido de fosfolípidos de HDL y en los niveles de apolipoproteína A-I (Tabla 2).

En cuanto a las subclases de HDL, la terapia con ANLE produjo un aumento significativo de 5,6 mg/dl (IC: 2,07-8,06; $p = 0,0028$) en los niveles de colesterol transportados en HDL2 (Figura 2), sin cambios significativos en los niveles de colesterol asociados a HDL3 ($p = 0,1299$). Además, el aumento en el colesterol asociado a HDL2 se correlacionó con un incremento significativo de 11% ($p = 0,007$) en el tamaño estimado de las partículas de HDL post-tratamiento con AN versus la situación basal (Tabla 2).

Funcionalmente, se analizaron los cambios en la capacidad de transporte (eflujo y captación) celular de colesterol de las partículas de HDL aisladas antes y después del tratamiento con AN en forma

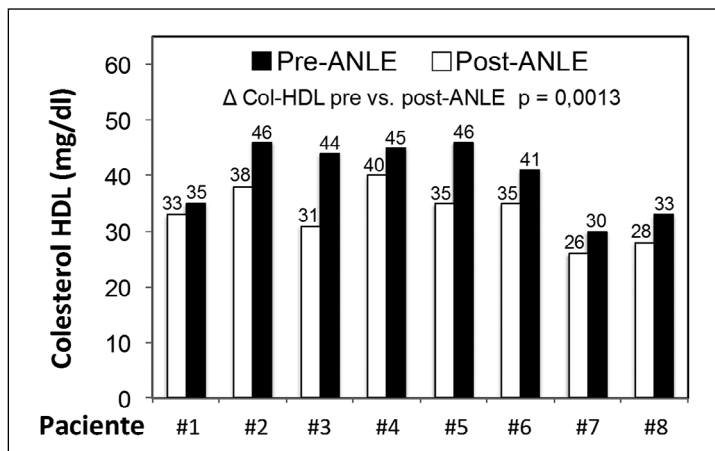


Figura 1. Efecto del AN sobre los niveles de colesterol HDL en pacientes con hipoalfalipoproteinemia. Los valores de colesterol HDL total se midieron en muestras plasmáticas antes y después del tratamiento con AN usando un método clínico rutinario. Comparando antes y después del tratamiento en cada paciente, el uso de ANLE mostró un aumento promedio significativo en los niveles totales de colesterol HDL.

Tabla 2. Efecto del AN sobre los niveles de colesterol, fosfolípidos HDL y apolipoproteína A-I y el tamaño de las partículas de HDL en pacientes con hipoalfalipoproteinemia

Parámetro de HDL	Pre-ANLE	Post-ANLE	p
Colesterol HDL	33,2 ± 4,8	40,9 ± 6,4	0,0013
Colesterol HDL2	4,9 ± 1,5	10,5 ± 4,2	0,0028
Colesterol esterificado/colesterol total en HDL (%)	69,8 ± 2,2	70,5 ± 1,6	0,079*
Fosfolípidos HDL (mg/dl)	78,4 ± 14,6	105,9 (92,4-135,5)	< 0,05*
Apolipoproteína A-I (mg/dl)	129,3 ± 5,8	136,6 ± 3,4	0,004
Tamaño de partículas de HDL (nm)	9,11 ± 0,6	10,1 ± 0,8	0,007

Los datos se muestran como media ± 1 DE o mediana y cuartiles. Los valores de p indican la significación estadística de la diferencia entre la condición basal y post-terapia con ácido nicotínico evaluada mediante test t de Student o de rangos con signo de Wilcoxon(*) para muestras pareadas.

dependiente de SR-BI, usando una línea celular con sobreexpresión de este receptor y el respectivo control celular que no lo expresa. Todos los ensayos se realizaron mediante adición al medio de cultivo de un volumen fijo (100 μ l) de plasma sobrenadante después de la precipitación de las lipoproteínas no HDL. Este volumen de plasma adicionó una cantidad de HDL que permitió alcanzar concentraciones finales de apo A-I entre 8-24 μ g/ml de apo A-I en cada ensayo, las cuales se encuentran dentro del rango lineal de la curva

dosis respuesta de unión, eflujo y captación de colesterol de las partículas de HDL en células que expresan el receptor SR-BI^{9,10}. En primer lugar, la capacidad de eflujo celular de colesterol de las HDL dependiente del receptor SR-BI mostró un aumento absoluto significativo de 7,9% (IC: 2,9-12,8; $p = 0,011$), lo que equivale a un incremento relativo de 93%, después del tratamiento con AN en comparación con la funcionalidad basal de estas lipoproteínas (Figura 3). Por otro lado, la capacidad de las lipoproteínas HDL para facilitar la

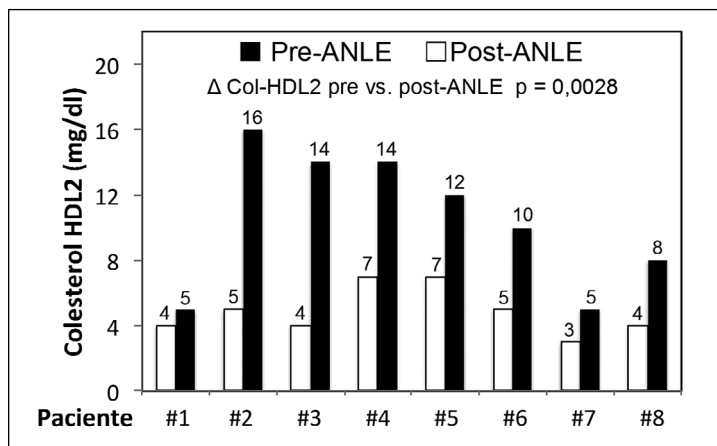


Figura 2. Efecto del AN sobre los niveles de colesterol asociado a HDL2 en pacientes con hipoalfalipoproteinemia. Los valores de colesterol presentes en las partículas de HDL2 se midieron en muestras plasmáticas antes y después del tratamiento con AN usando el método descrito en la sección de Métodos. La terapia con ANLE produjo un incremento significativo en los niveles de colesterol transportados en HDL2 comparando la condición pre- versus post-tratamiento.

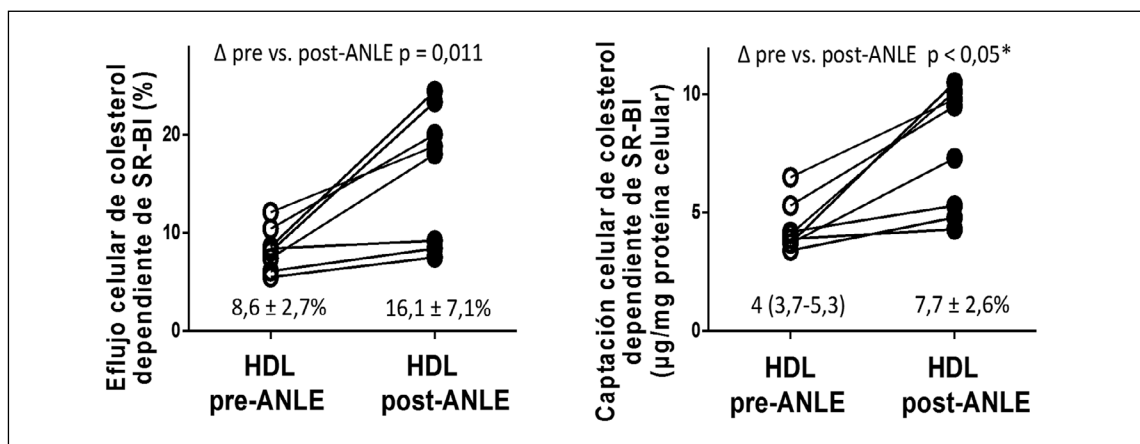


Figura 3. Efecto del AN sobre el transporte celular de colesterol HDL dependiente del receptor SR-BI en pacientes con hipoalfalipoproteinemia. El eflujo (izquierda) y la captación (derecha) celular de colesterol dependiente específicamente de SR-BI e inducido por las partículas de HDL obtenidas antes y después del tratamiento con AN se determinaron como se describe en la sección de Métodos. Los datos se muestran como media \pm 1 DE o mediana y cuartiles. Los valores de p indican la significación estadística de la diferencia entre la condición basal y post-terapia con ácido nicotínico evaluada mediante test t de Student o de rangos con signo de Wilcoxon(*) para muestras pareadas. Tanto la capacidad de eflujo como captación celular de colesterol de las HDL dependiente del receptor SR-BI mostraron un aumento significativo después del tratamiento con AN en comparación con ambas funcionalidades de estas lipoproteínas en condiciones basales.

captación de colesterol hacia las células en cultivo por medio del receptor SR-BI aumentó significativamente, determinando un incremento neto de 3,4 µg colesterol/mg de proteína celular (IC: 1,4-5,3; $p = 0,045$), cuando se compara la condición previa versus el estado posterior al tratamiento con AN. El efecto de este hipolipemiente sobre estas variables no dependió de la presencia basal de trastornos en el metabolismo glucídico. En conjunto, estos resultados funcionales muestran que el plasma obtenido después del tratamiento con ANLE tiene una mayor capacidad de transporte de colesterol dependiente de SR-BI entre las partículas de HDL y las células que expresan este receptor lipoproteico.

Discusión

Además de comprobar los cambios conocidos sobre los niveles y la composición de las HDL, este estudio clínico piloto describe el efecto del tratamiento con AN sobre la funcionalidad de las partículas de HDL cuando participan en el proceso de transporte celular de colesterol mediado por el receptor lipoproteico SR-BI.

Bioquímicamente, este trabajo confirma que el tratamiento de pacientes hipoalfalipoproteínémicos con AN aumenta los niveles totales de colesterol HDL¹⁷⁻²¹ y que este cambio se debe a un aumento concomitante y proporcional en el contenido de colesterol libre y esterificado, asociado con un aumento en los niveles de fosfolípidos presentes en esta clase lipoproteica. Por lo tanto, AN preserva la composición relativa de colesterol libre/esterificado en las HDL, rasgo que parece ser crítico para la funcionalidad normal de estas partículas lipoproteicas en el transporte de colesterol desde y hacia las células *in vivo*. De hecho, las partículas de HDL enriquecidas en fosfolípidos tienen una mayor capacidad de eflujo de colesterol celular a través de SR-BI³⁴.

En relación al tamaño de las partículas de HDL, este estudio piloto muestra que ANLE induce un aumento significativo en el diámetro estimado de esta fracción lipoproteica, asociado a la acumulación de HDL2, sin cambios en HDL3²²⁻²⁴. Esta acumulación de partículas de HDL de mayor tamaño se explicaría por la menor degradación hepatocelular de HDL2 inducida por AN²⁵. Este aumento neto en los niveles de colesterol HDL asociados

con la presencia de las partículas de HDL más grandes puede conducir a un transporte reverso de colesterol más eficiente *in vivo*, ya sea mediante el aumento del flujo de salida de colesterol desde las células periféricas hacia las partículas de HDL, así como una mayor captación de colesterol desde estas últimas hacia los hepatocitos.

En cuanto a los estudios de transporte celular de colesterol, el tratamiento con ANLE se asoció claramente a mayor eflujo y captación de colesterol celular inducida por las HDL plasmáticas en forma dependiente de la expresión del receptor SR-BI. De hecho, estos hallazgos son consistentes con estudios previos que indican que la afinidad de la unión de las partículas de HDL a SR-BI se relaciona directamente con el tamaño e inversamente con la densidad de estas lipoproteínas³⁵. Estos hallazgos sugieren un nuevo mecanismo por el cual las partículas de HDL2 se han asociado preferencialmente con menor riesgo de aterosclerosis²⁶⁻²⁸.

Nuestro trabajo no permite diferenciar si el aumento en la capacidad de transporte de colesterol de las HDL obtenidas después del tratamiento con ANLE se explica simplemente por el aumento observado en los niveles de HDL, por un mayor número de partículas HDL o una mejor funcionalidad intrínseca. Un estudio reciente indica que el incremento en la capacidad de eflujo de colesterol celular inducido por plasma humano post-tratamiento con AN se debe principalmente al cambio en la concentración de HDL, sin modificaciones en la función de las partículas de HDL *per se*³⁶. Sin embargo, nuevos fármacos en desarrollo aumentarían la capacidad funcional intrínseca de las partículas de HDL en el proceso de eflujo celular de colesterol^{32,37}.

A pesar de estos efectos favorables sobre las lipoproteínas HDL, así como en los niveles de colesterol LDL y triglicéridos, los estudios de intervención más recientes no demostraron un beneficio clínico adicional del uso de AN asociado a estatinas^{21,38}. Por lo tanto, no existe evidencia suficiente para recomendar terapia con AN orientada a HDL para disminuir el riesgo cardiovascular residual que existe a pesar de una óptima terapia hipolipemiente con estatinas. Sin embargo, AN puede seguir siendo útil como tratamiento adyuvante en pacientes que persisten con altos niveles de lipoproteínas aterogénicas y que no toleran el uso o el aumento en la dosificación de las estatinas como terapia primaria.

En resumen, este estudio clínico piloto establece que la actividad funcional del receptor de HDL SR-BI pudiese ser relevante en la comprensión de los efectos biológicos de los fármacos hipolipemiantes. Si este nuevo mecanismo de acción del AN mediado por SR-BI en células en cultivo ocurre *in vivo*, el diseño de nuevos fármacos que aumenten la expresión y/o la actividad de este receptor lipoproteico podrían modular favorablemente el metabolismo de HDL y optimizar la prevención y tratamiento de la aterosclerosis.

Referencias

- Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res* 2005; 96: 1221-32.
- Scanu AM, Edelstein C. HDL: bridging past and present with a look at the future. *FASEB J* 2008; 22: 4044-54.
- Komoda T (editor). *The HDL Handbook*. Biological Functions and Clinical Implications. 2nd Edition. New York: Academic Press; 2013.
- Soran H, Hama S, Yadav R, Durrington PN. HDL functionality. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23: 353-66.
- Rye KA, Barter PJ. Cardioprotective functions of HDLs. *J Lipid Res* 2014; 55: 168-79.
- Contreras-Duarte S, Varas P, Awad F, Busso D, Rigotti A. Protective role of high density lipoproteins in sepsis: basic issues and clinical implications. *Rev Chil Infectol* 2014; 31: 34-43.
- Khera AV, Rader DJ. Future therapeutic directions in reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep* 2010; 12: 73-81.
- Hellerstein M, Turner S. Reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipidol* 2014; 25: 40-7.
- Rigotti A, Krieger M. Getting a handle on "good" cholesterol with the high-density lipoprotein receptor. *N Engl J Med* 1999; 341: 2011-13.
- Gu X, Kozarsky K, Krieger M. Scavenger receptor class B, type I-mediated [3H]cholesterol efflux to high and low density lipoproteins is dependent on lipoprotein binding to the receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 29993-30001.
- Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* 1996; 271: 518-20.
- Rigotti A, Miettinen HE, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in the lipid metabolism of endocrine and other tissues. *Endocr Rev* 2003; 24: 357-87.
- Trigatti BL, Krieger M, Rigotti A. Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1732-8.
- Mineo C, Shaul PW. Functions of scavenger receptor class B, type I in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23: 487-93.
- Vergeer M, Korporeaal SJ, Franssen R, Meurs I, Out R, Hovingh GK, et al. Genetic variant of the scavenger receptor BI in humans. *N Engl J Med* 2011; 364: 136-45.
- Brunham LR, Tietjen I, Boehm AE, Singaraja RR, Franchini PL, Radomski C, et al. Novel mutations in scavenger receptor BI associated with high HDL cholesterol in humans. *Clin Genet* 2011; 79: 575-81.
- McKenney J. New perspectives on the use of niacin in the treatment of lipid disorders. *Arch Intern Med* 2004; 164: 697-705.
- Creider JC, Hegele RA, Joy TR. Niacin: another look at an underutilized lipid-lowering medication. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8: 517-28.
- Julius U, Fischer S. Nicotinic acid as a lipid-modifying drug-a review. *Atheroscler Suppl* 2013; 14: 7-13.
- Kamanna VS, Ganji SH, Kashyap ML. Recent advances in niacin and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24: 239-45.
- Ginsberg HN, Reyes-Soffer G. Niacin: a long history, but a questionable future. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24: 475-9.
- Shepherd J, Packard CJ, Patsch JR, Gotto AM, Taunton OD. Effects of nicotinic acid therapy on plasma high density lipoprotein subfraction distribution and composition and on apolipoprotein A metabolism. *J Clin Invest* 1979; 63: 858-67.
- Atmeh RF, Shepherd J, Packard CJ. Subpopulations of apolipoprotein A-I in human high-density lipoproteins. Their metabolic properties and response to drug therapy. *Biochim Biophys Acta* 1983; 751: 175-88.
- Morgan JM, Capuzzi DM, Baksh RI, Intenzo C, Carey CM, Reese D, et al. Effects of extended-release niacin on lipoprotein subclass distribution. *Am J Cardiol* 2003; 91: 1432-6.
- Jin FY, Kamanna VS, Kashyap ML. Niacin decreases removal of high-density lipoprotein apolipoprotein A-I but not cholesterol ester by Hep G2 cells: implication of reverse cholesterol transport. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1991; 17: 2020-8.
- Asztalos BF, Roheim PS, Milani RL, Lefevre M, McNamara JR, Horvath KV, et al. Distribution of

- ApoA-I-containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2670-6.
27. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 2010; 213: 251-5.
 28. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. High-density lipoprotein subfractions--what the clinicians need to know. *Cardiology* 2013; 124: 116-25.
 29. Talameh Y, Wei R, Naito H. Measurement of total HDL, HDL2 and HDL3 by dextran sulfate-MgCl₂ precipitation technique in human serum. *Clin Chim Acta* 1986; 158: 33-41.
 30. Rigotti A, Trigatti BL, Penman N, Rayburn HM, Krieger MA. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger class B type I reveals its key role in HDL metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12610-5.
 31. Amigo L, Zanlungo S, Glick JM, Hyogo H, Cohen DE, Rigotti A, et al. Hepatic overexpression of sterol carrier protein-2 inhibits VLDL production and reciprocally enhances biliary lipid secretion. *J Lipid Res* 2003; 44: 399-407.
 32. Yvan-Charvet L, Matura F, Wang N, Bamberger MJ, Nguyen T, Rinninger F, et al. Inhibition of cholesteryl ester transfer protein by Torcetrapib modestly increases macrophage cholesterol efflux to HDL. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2007; 27: 1132-8.
 33. Perusse M, Pascot A, Despres JP, Couillard C, Lamerche B. A new method for HDL particle sizing by polyacrylamide gradient gel electrophoresis using whole plasma. *J Lipid Res* 2001; 42: 1331-4.
 34. Yancey PG, de la Llera-Moya M, Swarnakar S, Monzo P, Klein SM, Connelly MA, et al. High density lipoprotein phospholipid composition is a major determinant of the bi-directional flux and net movement of cellular free cholesterol mediated by scavenger receptor BI. *J Biol Chem* 2000; 275: 36596-604.
 35. Liadaki KN, Liu T, Xu S, Ishida BY, Duchateau PN, Krieger JP, et al. Binding of high density lipoprotein (HDL) and discoidal reconstituted HDL to the HDL receptor scavenger receptor class B type I. Effect of lipid association and APOA-I mutations on receptor binding. *J Biol Chem* 2000; 275: 21262-71.
 36. Khera AV, Patel PJ, Reilly MP, Rader DJ. The addition of niacin to statin therapy improves high-density lipoprotein cholesterol levels but not metrics of functionality. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 1909-10.
 37. Yvan-Charvet L, Kling J, Pagler T, Li H, Hubbard B, Fisher T, et al. Cholesterol efflux potential and anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein after treatment with niacin or anacetrapib. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2010; 30: 1430-8.
 38. Gouni-Berthold I, Berthold HK. The role of niacin in lipid-lowering treatment: are we aiming too high? *Curr Pharm Des* 2013; 19: 3094-106.