

Lipoproteína-X

M. L. Fernández Ruano, E. Muñoz Folla

Resumen

En este trabajo revisamos los conocimientos actuales sobre la lipoproteína-X, también conocida como la lipoproteína de la obstrucción, una lipoproteína que aparece en el suero de pacientes con colestasis. Se comentan las características de dicha lipoproteína, sus mecanismos de formación y eliminación, su importancia clínica y su posible utilidad diagnóstica, así como los métodos que se han descrito para su valoración en el laboratorio.

Introducción

A mediados del siglo XX se publicaron trabajos sobre alteraciones en las distintas fracciones de lipoproteínas obtenidas por ultracentrifugación del suero de pacientes con colestasis (1, 2). Lo que se observaba en estos casos era una fracción HDL disminuida acompañada de un aumento importante de la fracción LDL. Además, esta última fracción presentaba características anómalas en cuanto a su composición (gran contenido en fosfolípidos y colesterol), movilidad electroforética y propiedades inmunoquímicas. Hoy día se sabe que este aumento aparente de fracción LDL es debida a una forma anómala de LDL, identificada como lipoproteína-X (Lp-X), que se encuentra en el suero de pacientes con enfermedad colestática o con deficiencia de lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT), y también en neonatos con función hepática inmadura.

Cuando se hace el perfil lipídico a este tipo de pacientes se suelen medir concentraciones altas de colesterol de LDL (col-LDL) que no se corresponden con las concentraciones obtenidas de apolipoproteína B (apo-B), que suelen ser normales o discretamente altas. En el caso de que no se realice la determinación de apo-B, se puede llegar a una malinterpretación de los resultados o plantear dudas en la interpretación de éstos.

Composición, estructura y propiedades

Seidel *et al.* bautizaron y estudiaron por primera vez a esta lipoproteína, de características muy diferentes a las de las lipoproteínas que se encuentran normalmente en el suero humano (3). Consta en su composición de un 94 % de lípidos y un 6 % de proteínas en peso (figura 1). La fracción lipídica se compone mayoritariamente de fosfolípidos (principalmente fosfatidilcolina) y colesterol, y además hay una pequeña cantidad de triglicéridos y colesterol esterificado. Las principales proteínas presentes en la Lp-X son apolipoproteína C (apo-C) (proteína

Summary

In this work we review what is known at this moment about the lipoprotein-X, also known as the obstruction's lipoprotein, a lipoprotein that is present in the serum of patients with cholestasis. The characteristics of this lipoprotein, its mechanisms of formation and elimination, clinical importance and possible diagnostic utility, as well as the methods described for its determination in the laboratory are commented.

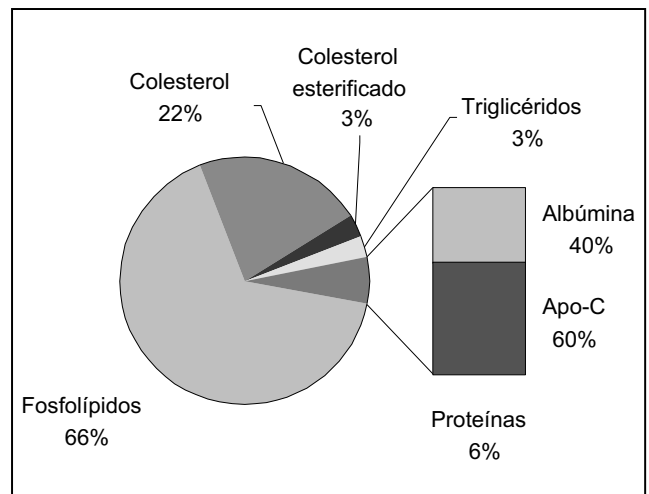


Figura 1. Composición en peso de la Lp-X.

mayoritaria) y albúmina (4). Se han aislado mediante ultracentrifugación tres poblaciones distintas de Lp-X, denominadas Lp-X1, Lp-X2 y Lp-X3, con densidades comprendidas entre 1,038 y 1,058 mg/dL (5). La desigualdad de densidad entre estas poblaciones se debe a pequeñas diferencias cuantitativas en su composición; además, sólo la Lp-X1 y la Lp-X2 poseen apolipoproteína AI (apo-AI) y apolipoproteína E (apo-E).

Estudios de microscopía electrónica y dispersión de rayos X han mostrado un diámetro de 30-70 nm para estas lipoproteínas (6). Se trata por tanto de partículas con un tamaño similar a las VLDL, aunque con la densidad de las LDL. No obstante, su estructura difiere del resto de las lipoproteínas, que poseen un núcleo denso donde se encuentran los triglicéridos y el colesterol esterificado, rodeado por una monocapa de fosfolípidos y colesterol en la que aparecen insertadas las apolipoproteínas

Abreviaturas:
 Lp-X: lipoproteína X
 col-LDL: colesterol LDL
 apo-AI: apolipoproteína AI
 apo-B: apolipoproteína B
 apo-C: apolipoproteína C
 apo-E: apolipoproteína E
 LCAT: lecitina:colesterol aciltransferasa
 SDS: dodecilsulfato sódico

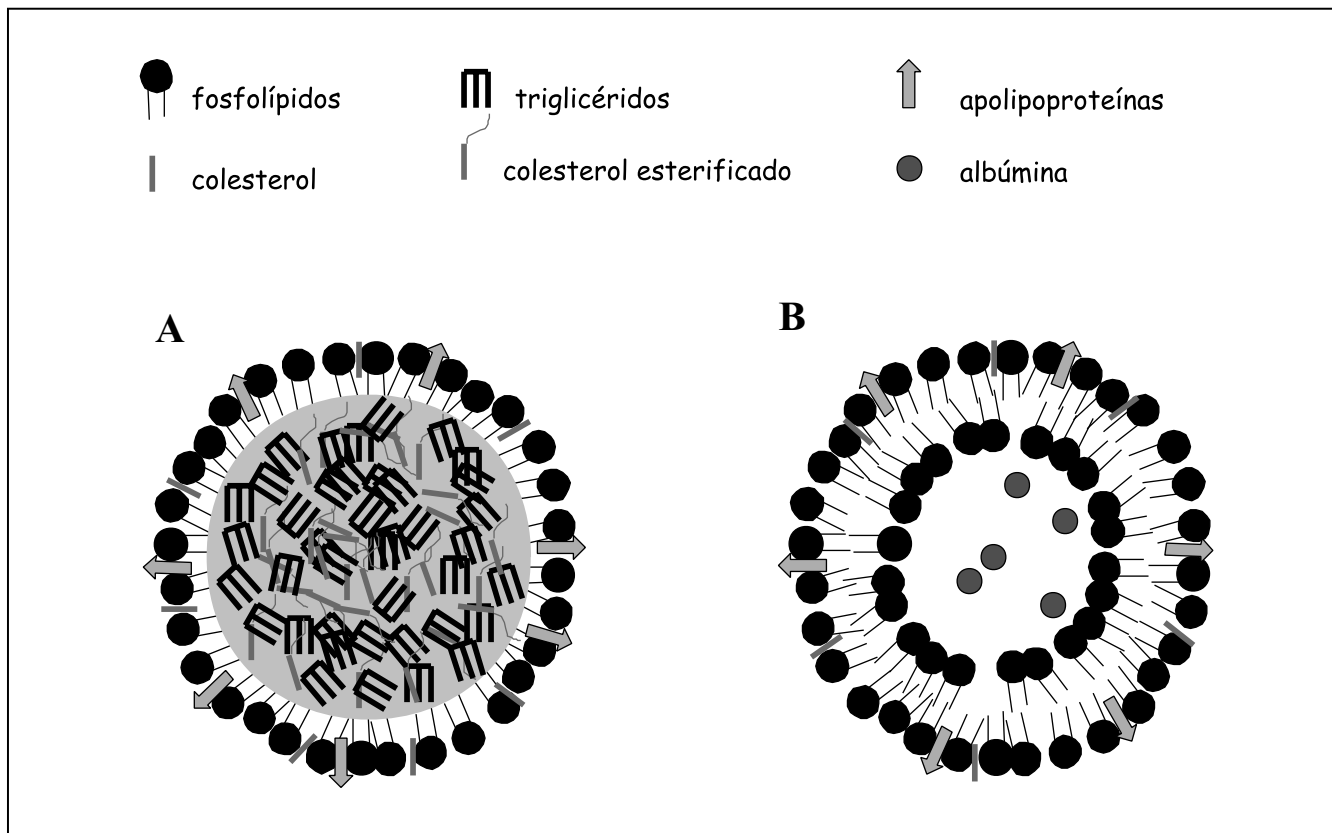


Figura 2. A. Estructura de las lipoproteínas normales. B. Estructura de la Lp-X.

(figura 2A). La Lp-X, en cambio, posee una estructura unilamelar (6-8), es decir, está constituida por una bicapa de fosfolípidos y colesterol (sus dos componentes mayoritarios) que rodea a un compartimento acuoso (figura 2B). En esta estructura, la apo-C estaría insertada en la bicapa, y la albúmina quedaría contenida en el compartimento acuoso.

La movilidad electroforética de la Lp-X en geles de agar también es distinta al resto de las lipoproteínas. A diferencia de éstas, la Lp-X migra hacia el cátodo (3).

Formación de la Lp-X

La Lp-X se ha detectado y estudiado mayoritariamente en el suero de pacientes con colestasis. El mecanismo de formación en estos individuos aún no se conoce, pero parece bastante probable que se deba al reflujo de sus constituyentes desde la bilis. Esta hipótesis está apoyada por experimentos en los que se han obtenido estructuras muy similares a esta lipoproteína tras incubar bilis en presencia de albúmina (9). A partir de estudios realizados en rata, Felker *et al.* sugieren que, tras formarse en la luz de los canalículos biliares, la Lp-X sería transportada por vesículas pinocíticas hasta el espacio de Wisse (10). También se ha observado en un estudio reciente llevado a cabo en ratones que las glicoproteínas-P de clase III situadas en los canalículos biliares podrían estar implicadas en la formación de esta lipoproteína (11).

Además de en pacientes colestáticos, se ha descrito la presencia de Lp-X en otras situaciones clínicas. Así, se ha detectado en individuos con deficiencia de actividad LCAT (12-14). La formación de Lp-X en este tipo de pacientes está favorecida por la acumulación de colesterol, que es uno de los componentes mayoritarios de la Lp-X. En uno de estos pacientes, Guerin

et al. observaron además una correlación entre la concentración sérica de Lp-X y la alteración de la función renal (14). También se ha detectado en el suero de algunos neonatos, posiblemente debido a inmadurez hepática (15).

Se ha descrito también la presencia de Lp-X en pacientes con alimentación parenteral a los que se administran emulsiones ricas en fosfolípidos (16-24). Los fosfolípidos constituyen uno de los componentes mayoritarios de la Lp-X, por lo que su alta concentración en estas preparaciones hace que se favorezca la formación de la lipoproteína, que es la responsable de la hiperlipidemia observada en estos pacientes. En estos trabajos se concluye que convendría que la relación fosfolípidos/triglicéridos fuera menor en la emulsión y que ésta se debe administrar a una velocidad lenta para prevenir la formación de esta lipoproteína.

Eliminación

Los primeros trabajos realizados sobre la depuración de Lp-X indicaban que éste se lleva a cabo por el sistema reticuloendotelial, especialmente en hígado y bazo (13). Estudios más recientes *in vitro* han demostrado que en la depuración están más implicados los hepatocitos que los macrófagos (25). Otras investigaciones realizadas en rata otorgan también un papel en esta función a las células mesangiales del riñón, si bien éstas sólo darían cuenta de un pequeño porcentaje de la fracción eliminada de Lp-X (26).

Importancia clínica

Se ha demostrado que, a pesar de ser responsable de las altas concentraciones séricas de colesterol en pacientes con colestasia

Tabla I. Métodos de laboratorio para la medición de Lp-X

| Separación de lipoproteínas | Cuantificación de Lp-X | Referencia |
|-----------------------------|---|------------|
| Electroforesis | Títulación con antisuero (semicuantitativo) | 38 |
| | Densitometría | 39 |
| | Cuantificación de fosfolípidos | 40 |
| | Incorporación de colesterol | 41 |
| Centrifugación | Turbidimetría | 42, 43 |
| | Cuantificación de fosfolípidos | 44, 46 |
| | Cuantificación de colesterol | 47 |
| | Colorimetría con negro Sudán B | 48 |

sis, la Lp-X es incapaz de activar mecanismos de retroalimentación negativa para la síntesis de colesterol *de novo* (27, 28); es más, Chisholm *et al.* han observado que la Lp-X no sólo no inhibe, sino que estimula la actividad de hidroximetilglutaril-CoA reductasa en ratón, posiblemente debido a la depleción de colesterol que se produce en las membranas de los hepatocitos (29). Esta situación agrava la acumulación de colesterol, haciendo que algunos pacientes con colestasis desarrollen un cuadro bioquímico similar a la hipercolesterolemia familiar de tipo IIa. Sin embargo, los resultados obtenidos en un estudio con pacientes cirróticos indican que no hay correlación entre la concentración de Lp-X y de colesterol en el suero de dichos pacientes (30).

Aún no está claro el posible papel aterogénico del colesterol de la Lp-X. Abe *et al.* (25) creen que la hiperlipidemia debida a Lp-X no es aterogénica, al estar mediado su aclaramiento más por los hepatocitos que por macrófagos. Sin embargo, Lynn y Karmin (31) detectaron células espumosas formadas a partir de macrófagos de rata, si bien estos experimentos fueron llevados a cabo *in vitro*. Rotheneder *et al.* no encontraron efecto aterogénico de la Lp-X *per se*, pero piensan que sí podría potenciar la actividad aterogénica de otros factores (32).

Desde que se describió a finales de los años 60, se ha estudiado el empleo de la Lp-X como marcador de colestasis en el laboratorio, más concretamente para el diagnóstico diferencial de colestasis intra y extrahepática. Sin embargo, debido a que la mayoría de los autores no ha detectado diferencias significativas de concentración de Lp-X en ambos tipos de colestasis (33-37), teniendo en cuenta su baja sensibilidad, su medida no se utiliza en la actualidad.

Métodos de laboratorio

La mayoría de los métodos para la medida de Lp-X en suero se desarrollaron a lo largo de los años 70 y principios de los 80 (tabla I). Fue Seidel, su descubridor, el primero que logró tal propósito mediante un procedimiento inmunológico (38). Dicho procedimiento consiste en una inmunoelectroforesis en gel de agar en presencia de suero anti-Lp-X, cuyo resultado se puede semicuantificar haciendo diluciones seriadas de la muestra. Posteriormente se desarrolló otro método electroforético que, tras precipitar las fracciones separadas en el gel, las cuantifica mediante densitometría (39).

Poco después de la publicación del método de Seidel aparecieron los primeros procedimientos de tipo cuantitativo. El primero de ellos se basa en la separación electroforética de las fracciones lipoproteicas (aprovechando su capacidad de migrar hacia el cátodo) y la posterior cuantificación de los fosfolípidos de la Lp-X midiendo la concentración de fosfato (40). Otro método pone las muestras en presencia de colesterol radiactivo

de forma que éste se incorpore a las vesículas de Lp-X; después se hace una electroforesis y se mide la radiactividad de la fracción que migra hacia el cátodo (41).

Sin embargo, la mayoría de las técnicas desarrolladas hasta el momento se basan en la separación de la Lp-X del resto de lipoproteínas mediante la precipitación de estas últimas con polianiones y cationes divalentes y posterior centrifugación. Una vez separada la fracción (sobrenadante) que contiene a la Lp-X, se puede medir la concentración de ésta mediante varios métodos:

– El método desarrollado por Talafant y Tovarek consiste en precipitar el resto de lipoproteínas con heparina y acetato de cinc; una vez separado el sobrenadante, se mide la concentración de Lp-X en éste mediante una reacción turbidimétrica induciendo la agregación de sus vesículas con heparina y CaCl_2 (42). Hay otro método similar que en un primer paso elimina las lipoproteínas que contienen apo-B mediante precipitación con anticuerpos anti-apo-B, y posteriormente mide la turbidez del sobrenadante tras añadir SDS y MgCl_2 (43).

– Otros procedimientos se basan en la existencia de una relación lineal entre la concentración de fosfolípidos o de colesterol (medidas mediante un procedimiento colorimétrico) y la de Lp-X. El método de Hashiguchi (44) precipita las demás lipoproteínas con ácido fosfotúngstico, y a partir del sobrenadante precipita después la Lp-X y mide la cantidad de fosfolípidos mediante el método de Allen *et al.* (45). Una variante de este método precipita inicialmente todas las lipoproteínas (incluida la Lp-X) con polietilenglicol; posteriormente resuspende el sedimento en una disolución de polietilenglicol y ácido fosfotúngstico, condiciones en las cuales sólo la Lp-X se mantiene en suspensión, y tras separarla mediante centrifugación mide la concentración de fosfolípidos (46). Otro método mide en cambio la concentración de colesterol mediante la reacción de las enzimas colesterol oxidasa y peroxidasa, tras eliminar las lipoproteínas normales por precipitación con heparina y acetato de cinc (47).

– Un método muy sencillo consiste en añadir a la muestra negro Sudán B y, tras precipitar las otras lipoproteínas y el exceso de cromóforo con heparina y acetato de cinc, medir la absorbancia del negro Sudán B que queda unido en el sobrenadante a la Lp-X (48).

Conclusión

A pesar de la existencia de múltiples métodos desarrollados para su medida en suero, la utilidad diagnóstica como marcador de colestasis de la Lp-X no ha sido demostrada. La causa está principalmente en que su determinación no aporta ventajas en cuanto a sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de colestasis frente a otras magnitudes biológicas más fáciles de medir.

Actualmente, son pocos los trabajos que se publican sobre la Lp-X, ya que su hallazgo en muestras de determinados pacientes se considera como algo casual, de momento sin aplicación clínica, más aún teniendo en cuenta que la Lp-X desaparece cuando se eliminan las causas que han originado su aparición.

Sin embargo, el conocimiento de esta lipoproteína es de interés, ya que su presencia puede llevar a malinterpretar resultados analíticos. Normalmente, la concentración sérica de col-LDL se calcula mediante la fórmula de Friedewald. La presencia de Lp-X en la muestra da lugar a un error en el resultado de esta fórmula que se traduce en un valor anormalmente alto de col-LDL que no se corresponde con la concentración de apo-B. Una alternativa para calcular la concentración real de col-LDL en estos pacientes es medirlo directamente, aunque no todos los métodos desarrollados son capaces de corregir la interferencia debida a la Lp-X (49).

Agradecimientos

Deseamos agradecer al Dr. Esteban Mancheño sus correcciones y su revisión crítica de este trabajo.

Correspondencia:
M. L. Fernández Ruano
Servicio de Bioquímica Clínica.
Hospital General Universitario
Gregorio Marañón.
C/ Doctor Esquerdo, 46,
28007 Madrid.
miguelu@solea.quim.ucm.es

Bibliografía

- Russ EM, Raymunt J, Barr DP. Lipoproteins in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest* 1956; 35: 133.
- Switzer S. Plasma lipoproteins in the differential diagnosis of liver disease. *Gastroenterology* 1967; 53: 790-3.
- Seidel D, Alaupovic P, Furman RH. A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. I. Method for quantitative separation and identification of lipoproteins in jaundiced subjects. *J Clin Invest* 1969; 48: 1211-23.
- Seidel D, Alaupovic P, Furman RH, McConathy J. A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. II. Isolation and partial characterization of the protein moieties of low density lipoproteins. *J Clin Invest* 1970; 49: 2396-407.
- Patsch JR, Aune KC, Gotto AM Jr, Morrisett JD. Isolation, chemical characterization, and biophysical properties of three different abnormal lipoproteins: LP-X1, LP-X2, and LP-X3. *J Biol Chem* 1977; 252: 2113-20.
- Hamilton RL, Havel RJ, Kane JP, Blaurock AE, Sata T. Cholestasis: lamellar structure of the abnormal human serum lipoprotein. *Science* 1971; 172: 475-8.
- Brainard JR, Cordes EH, Gotto AM, Patsch JR, Morrisett JD. Lipoprotein-X: proton and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance studies on native, reconstituted, and model systems. *Biochemistry* 1980; 19: 4273-9.
- Brainard JR, Hamilton JA, Cordes EH, Patsch JR, Gotto AM, Morrisett JD. Lipoprotein-X: carbon-13 nuclear magnetic resonance studies on native, reconstituted, and model systems. *Biochemistry* 1980; 19: 4266-73.
- Manzato E, Fellin R, Baggio G, Walch S, Neubeck W, Seidel D. Formation of lipoprotein-X. Its relationship to bile compounds. *J Clin Invest* 1976; 57: 1248-60.
- Felker TE, Hamilton RL, Havel RJ. Secretion of lipoprotein-X by perfused livers of rats with cholestasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 3459-63.
- Elferink RP, Ottenhoff R, van Marle J, Frijters CM, Smith AJ, Groen AK. Class III glycoproteins mediate the formation of lipoprotein X in the mouse. *J Clin Invest* 1998; 102: 1749-57.
- Agorastos J, Fox C, Harry DS, McIntyre N. Lecithin-cholesterol acyltransferase and the lipoprotein abnormalities of obstructive jaundice. *Clin Sci Mol Med* 1978; 54: 369-79.
- Walli AK, Seidel D. Role of lipoprotein-X in the pathogenesis of cholestatic hypercholesterolemia. Uptake of lipoprotein-X and its effect on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and chylomicron remnant removal in human fibroblasts, lymphocytes and in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 867-79.
- Guerin M, Dolphin PJ, Chapman MJ. Familial lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency: further resolution of lipoprotein particle heterogeneity in the low density interval. *Atherosclerosis* 1993; 104: 195-212.
- Witt J, Ober M. Lp-X in newborns: incidence of positive tests without cholestasis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 197-202.
- Miyahara T, Fujiwara H, Yae Y, Okano H, Okochi K, Torisu M. Abnormal lipoprotein appearing in plasma of patients who received a ten percent soybean oil emulsion infusion. *Surgery* 1979; 85: 556-74.
- Griffin E, Breckenridge WC, Kuksis A, Bryan MH, Angel A. Appearance and characterization of lipoprotein-X during continuous intralipid infusions in the neonate. *J Clin Invest* 1979; 64: 1703-12.
- Muckle TJ, Bradford JA, Aukland P. Occurrence of lipoprotein-X associated with intravenous administration of lipid emulsion in adults. *Am J Clin Pathol* 1982; 78: 523-6.
- Rigaud D, Serog P, Legrand A, Cerf M, Apfelbaum M, Bonfils S. Quantification of lipoprotein X and its relationship to plasma lipid profile during different types of parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1984; 8: 529-34.
- Weinberg RB, Singh KK. Short-term parenteral nutrition with glucose and Intralipid: effects on serum lipids and lipoproteins. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 794-8.
- Messing B, Peynet J, Poupon J, Pfeiffer A, Thuillier F, Chazouilleres O et al. Effect of fat-emulsion phospholipids on serum lipoproteins profile during 1 mo of cyclic total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 1094-100.
- Tashiro T, Mashima Y, Yamamori H, Horibe K, Nishizawa M, Sanada M, et al. Increased lipoprotein X causes hyperlipidemia during intravenous administration of 10% fat emulsion in man. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15: 546-50.
- Tashiro T, Mashima Y, Yamamori H, Sanada M, Nishizawa M, Okui K. Intravenous intralipid 10% vs. 20% hyperlipidemia, and increase in lipoprotein X in humans. *Nutrition* 1992; 8: 155-60.
- Hailer S, Jauch KW, Wolfram G. Influence of different fat emulsions with 10 or 20% MCT/LCT or LCT on lipoproteins in plasma of patients after abdominal surgery. *Ann Nutr Metab* 1998; 42: 170-80.
- Abe M, Kawano M, Tashiro T, Yamamori H, Takagi K, Morishima Y et al.. Catabolism of lipoprotein-X induced by infusion of 10% fat emulsion. *Nutrition* 1997; 13: 417-21.
- Lynn EG, Choy PC, Magil A, O K. Uptake and metabolism of lipoprotein-X in mesangial cells. *Mol Cell Biochem* 1997; 175: 187-94.
- Liersch M, Baggio G, Heuck CC, Seidel D. Effect of lipoprotein-X on hepatic cholesterol synthesis. *Atherosclerosis* 1977; 26: 505-14.
- Edwards CM, Otal MP, Stacopole PW. Lipoprotein-X fails to inhibit hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase in HepG2 cells. *Metabolism* 1993; 42: 807-13.
- Chisholm JW, Nation P, Dolphin PJ, Agellon LB. High plasma cholesterol in drug-induced cholestasis is associated with enhanced hepatic cholesterol synthesis. *Am J Physiol* 1999; 276: G1165-73.
- Soros P, Botcher J, Maschek H, Selberg O, Muller MJ. Lipoprotein-X in patients with cirrhosis: its relationship to cholestasis and hypercholesterolemia. *Hepatology* 1998; 28: 1199-205.
- Lynn EG, Karmin O. Role of lipoprotein-X in foam cell formation and rat mesangial cell proliferation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997; 24: 973-5.
- Rotheneder M, Krempler F, Kostner GM. Interaction of various lipoproteins from normal and dyslipoproteinemic plasma with mouse peritoneal macrophages. *Ann Biol Clin (Paris)* 1988; 46: 30-4.
- Tanno H, Fay O, Palazzi J, Pedrana R, Yager E, Roncoroni M. Lp-X in cholestasis. *Acta hepatogastroenterol (Stuttg)* 1975; 22: 289-91.
- Simon JB, Poon RW. Lipoprotein-X levels in extrahepatic versus intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 1978; 75: 177-80.
- Weijers RN. Properties and clinical significance of an alkaline phosphatase-lipoprotein-X complex. *Clin Chem* 1980; 26: 609-12.
- Kruiswijk T, Holtkamp HC, Diaz D, Seidel B, Szakaly M. The relevance of some laboratory tests in the diagnosis of cholestasis and the differentiation between intra- and extrahepatic obstruction. *Clin Chim Acta* 1981; 112: 285-91.
- Schut JM, Diaz DP. The value of combined determination of high molecular mass API and LP-X in the differential diagnosis of intrahepatic and extrahepatic obstruction. *Clin Chim Acta* 1985; 148: 221-7.
- Seidel D. A new immunochemical technique for a rapid, semi-quantitative determination of the abnormal lipoprotein (LP-X) characterizing cholestasis. *Clin Chim Acta* 1971; 31: 225-9.
- Neubeck W, Seidel D. Direct method for measuring lipoprotein-X in serum. *Clin Chem* 1975; 21: 853-6.
- Magnani HN, Alaupovic P. A method for the quantitative determination of the abnormal lipoprotein (Lp-X) of obstructive jaundice. *Clin Chim Acta* 1972; 38: 405-11.
- Ritland S. A method for quantitative determination of the abnormal lipoprotein of cholestasis, Lp-X. *Clin Chim Acta* 1974; 55: 359-66.
- Talafant E, Tovarek J. Turbidimetric determination of lipoprotein-X in serum. *Clin Chim Acta* 1979; 96: 261-4.
- Bos ES, van der Doelen AA, Denissen AE, Goverde BC, Magnani HN, Kostner GM. A novel assay for the quantitative determination of lipoprotein-X serum. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 383-90.
- Hashiguchi Y, Kawaguchi M, Nakanishi M, Matsumori Y, Kaneda Y, Nakai C et al.. Simple, direct measurement of lipoprotein X in serum.

- Clin Chem 1982; 28: 606-8.
45. Allen JK, Hensley WJ, Nicholls AV, Whitfield JB. An enzymic and centrifugal method for estimating high-density lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1979; 25: 325-7.
46. Panteghini M, Malchiodi A, Bonora R. A simple method for quantitative determination of lipoprotein-X (Lp-X) in human serum. Clin Chim Acta 1985; 151: 187-92.
47. Talafant E, Tovarek J. Enzymatic determination of lipoprotein-X, a specific serum cholestasis marker. J Clin Chem Clin Biochem 1981; 19: 155-7.
48. Talafant E, Vacek P. Dye-binding method for rapid colorimetric determination of the cholestasis characterizing lipoprotein-X. J Clin Chem Clin Biochem 1982; 20: 163-5.
49. Fei H, Maeda S, Kirii H, Fujigaki S, Maekawa N, Fujii H et al.. Evaluation of two different homogeneous assays for LDL-cholesterol in lipoprotein-X-positive serum. Clin Chem 2000; 46: 1351-6.