

APOLİPOPROTEİNLER YAPILARI, FONKSİYONLARI, KLİNİK
DEĞERLENDİRME VE ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

ASLAN, D.

ÖZET: Apolipoproteinler, dokü reseptörlerine bağlanma ve lipoprotein metabolizmasında görev alan bazı enzimlerin kofaktörleri olan özellikleri ile lipoproteinlerin anabolizma ve katabolizmalarını düzenleyen glikoproteinlerdir. Başlıca onbeş insan plazma apolipoproteinini tanımlanmıştır (Tablo 1). Apolipoproteinler, enzimler ve dokü reseptörleri ile lipoproteinlerin metabolizma ve katabolizmalarını düzenleyen glikoproteinlerdir. Apolipoprotein A, B, C, D ve E olarak beş esas sınıfa ve terminal aminoasitlerine göre alt sınıflara ayrılırlar. Çoğunlukla immunokimyasal yöntemlerin kullanıldığı kantitatif tayinlerde; fizyolojik değerler olarak, apolipoprotein A-1 73-169 mg/dl (ort. \pm 2 SD), B-100 değeri 58-138mg/dl (ort. \pm 2 SD) miktarlarda saptanmıştır. Koroner kalp hastalıkları, risk faktörleri olan lipoproteinlerin ve apolipoproteinlerin, moleküler biyoloji, metabolizma ve laboratuvar tayinleri; aterosklerozun sebepleri, teşhisi, önlenmesi ve aterosklerozdan korunma konusunda temel teşkil etmekte ve çok yönlü araştırmalar yapılmaktadır.

ABSTRACT: Diler ASLAN, Biochemist, Social Security Hospital, Denizli. The Physiological functions and structure of apolipoproteins, clinical assessment and significance of apolipoprotein measurement.

The classification and metabolism of human apolipoproteins are reviewed. Apolipoproteins are glycoproteins which have major role on the synthesis and catabolism of lipoproteins. Fifteen human plasma apolipoproteins have been identified and characterized (Table 1). Immunoassays are the most quantitative apolipoprotein methods and with these methods, the reference values are determined as 73-169mg/dl (mean \pm 2SD), 58-138mg/dl (mean \pm 2SD) for apolipoprotein A-I and B-100, respectively. Recent reports have indicated that apolipoproteins are sensitive and specific biochemical markers in the assessment of cardiovascular disease. The steady increase of our knowledge on molecular biology and functional role of apolipoproteins will facilitate diagnosis, treatment and prevention of atherosclerosis.

Dr. Diler ASLAN (Biyokimya Uzmanı) Denizli Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi.

Anahtar sözcükler: Apolipoproteinler, lipoprotein metabolizması, Kardio-
vasküler hastalıklar ve ateroskleroz, Apolipoprotein ölçüm yöntemleri.

Key words: Apolipoproteins, Lipoprotein metabolism, Cardiovascular
disease and atherosclerosis, Apolipoprotein measurement.

APOLİPOPROTEİNLER: Apolipoproteinler, lipidlerin plazmada taşınma şekli olan lipoprotein (LP) partiküllerinde fosfolipidlerle beraber, hidrofobik karakterli lipidleri çevreleyen, hidrofobik karakterli yapıyı oluştururlar (Şekil 1). Nötral lipidler lipoproteinlerin inaktif bölümünü oluştururken, apolipoprotein kromozom enzimler ve dokü reseptörleri ile reaksiyona girerek, lipoproteinlerin metabolizma ve katabolizmalarını düzenleyen maddelerdir (79,98).

Heksoz, heksozanın, fukoz ve sialik asit içeren glikoproteinlerden oluşan apolipoproteinler 1,2,3 yapılarına, fizikokimyasal aktivitelerine ve lipoproteinlerdeki fonksiyon ve dağılımlarına göre beş esas sınıf, terminal aminoasitlerine göre de alt sınıflara ayrılırlar (Tablo 1) (10,71,98,103).

Apolipoproteinler, dokü reseptörlerine bağlanma ve lipid metabolizmasında görev alan bazı enzimlerin kofaktörleri olma özellikleri ile lipoproteinlerin anabolizma ve katabolizmalarını düzenleyen glikoproteinlerdir. Başlıca onbey insan plazma apolipoprotein tanımlanmıştır (Tablo 1).

APOLİPOPROTEİN A (Apo A): Yüksek dansiteli lipoproteinlerin (HDL) esas proteindir. diğer LP'lere de (özellikle şilemikronlarda major yüzey komponenti olarak) az oranlarda dağılmış durumdadırlar (36,67); Apo A-I, Apo A-II ve Apo A-III (Apo D'de denir) ve Apo A-IV olarak alt sınıflara ayrılırlar (10,67,72,81,103).

Apo A-1: (mol. ağı. 28.300) HDL apo A'sının yaklaşık %75'idir. 243-245 aminoasit kalıntısından oluşmuştur.

A-2: (mol. ağı. 17.000) HDL apo A'sının yaklaşık %25'idir. 157 aminoasit kalıntısından oluşmuştur.

Apo A: (mol. ağı. 46.000) Daha çok d⁺1.21 frauksiyonunda rastlanır. Aynı zamanda şilemikronların yapısında çok az miktarda bulunur (38,20,71).

Apo A-1 karaciğer ve ince barsakta, A-2 karaciğerde sentez edilir, şilemikronların komponentleri olarak dolaşıma katılırlar, HDL'ye transferden sonra KC ve barsakta katabolize olurlar (39,98).

FONKSİYONLARI: Apo A-2'nin fizyolojik rolü kesin olarak bilinmemektedir (39). Apo A-1'in fonksiyonları:

- 1) HDL oluşumunda gerekli yapısal komponenttir ve plazma HDL

konsantrasyonunun normal düzeyde kalmasının sağlanmasında en önemli faktördür (29,33,68,69,84,86,95).

2) Plazma serbest kolesterolünün esterifikasyonunda görevli lesitin kolesterol açıl transferazın (LCAT) kofaktörü olarak fonksiyon görür(26,67). Fakat bazı olgularda Apo A-1 yokluğu rağmen enzim aktivitesi saptanabilmiş ve buradan hareketle LCAT için Apo A-1'in tek kofaktör olmadığı sonucuna varılmıştır(39).

APOLİPOPROTEİN B (apo B): Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) esas proteinidir. (395), aynı zamanda çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) ve şilomikronların protein kısmında %40'ını oluşturur. Apo B suda çözünmez, bu nedenle fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemek çok zordur. Apo B-48 (mol. ağı. 264.000) ve Apo B-100 (mol. ağı. 504.000) olarak iki izoprotein vardır (20,13,14,39,41,48,49,75). Apo B-48 esas olarak barsakta sentez edilirken, endojen kaynaklı yağları taşıyan şilomikronlarda apo B-48 ve apo B-100'ün ikisinde bulunması apo B-100'ün hem karaciğerde hem de barsakta sentez edildiğini göstermektedir(10,41). Karaciğerde sentez edilen, endojen kaynaklı yağları taşıyan LP'lerde (VLDL, LDL) apo B-100 bulunur. LDL'nin tek apolipoproteini apo B-100'dür (39,72,81). Apo B'nin katabolizması esas olarak reseptöre bağlı yol ile olur. Hücrede internalize olduktan sonra, lizozomal enzimlerle aminoasitlerine ayrılırlar. Bir kısmı VLDL ve ara-dansiteli lipoproteinlerin (IDL) parçaları olarak katabolize olurken, diğer bir kısmı reseptöre bağlı olmayan "scavenger" yolu ile katabolize olurlar. Bu son süreçler ateroskleroz gelişiminde önemli rol alanlardır(28).

FONKSİYONLARI: Apo B-48 ve B-100 şilomikronların, VLDL'nin oluşumu ve plazmaya salınımı için gerekli olduğu gibi, bu LP'lerin yapısal proteinleridir(10,41,98). Apo B-100, apo E ile beraber LDL-reseptörü ile birleşerek absorptif endozitozisi başlatır ve böylece LDL'nin katabolizmasında önemli rol oynar(10,22,34).

APOLİPOPROTEİN C (Apo C): VLDL'nin esas, HDL ve LDL'nin minor protein komponentidir(39). En az beş izoformuna rastlanmıştır(67) ince de en çok bilinenleri üç tanedir:

Apo C-I: (mol. ağı. 6500) 57 aminoasitten oluşmuş tek bir zincirdir (38,39,67). Apo C-1 ağırlık olarak VLDL proteinlerinin %10'unu ve HDL proteinlerinin %2'sini oluşturmaktadır.

Apo C-II: (mol. ağı. 8800) 79 aminoasitten oluşmuş tek zincirli bir proteindir. VLDL proteininin %10, HDL₂'nin %1-2'sini, HDL₃'ün %1'den azını oluşturur(8,9,39,67).

Apo C-III: (mol. ağı. 8750) 79 aminoasitten oluşmuş, birinci yapıda bilinen tek zincirli bir proteindir. En az üç polimorfik şekilde bulunur (Apo C-III₀, C-III₁, C-III₂). VLDL proteininin %50'sini (major komponent), HDL'nin %2'sini (HDL'deki tek apo C) oluşturur(39,67).

Sentez yeri kesin olarak bilinmiyorsa da son araştırmalara göre primer organın KC olduğu sanılmaktadır(98).

Katabolizmaları ile ilgili çok az bilgi vardır. Gerçekte IDL ve LDL de hiç bulunmaz. Sadece VLDL, HDL ve şilomikronlarda dağılımlara ve aralarındaki transferleri ile ilgili sınırlı bilgi vardır(98).

FONKSİYONLARI: Apo C-1'in lipoprotein lipazı (LPL) aktive ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. LCAT'ın aktivasyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir. Fakat apo A-1'den daha düşük değerdedir ve LCAT'ın fizyolojik aktivasyonunda ikisi arasındaki ilişki bilinmemektedir(67,98). Apo C-2 ekstrahepatik LPL'in faktörü olarak Trigliserid (TG) metabolizmasında çok önemli rol oynar(9,36,55,67,98). Apo C-II aynı zamanda şilomikron ve VLDL'nin hepatik reseptörlere bağlanmasını inhibe eder. Bundan dolayı ekstrahepatik krilensi sağlar. Apo C-III'ün büyük olasılıkla LPL'nin inhibitörü olarak TG hidrolizinde rol oynadığı düşünülmektedir. Fakat bu özellik tek özelliği olmayıp, şu sırada fizyolojik anlamlılığı çözümlenmiş değildir(67,98).

APOLİPOPROTEİN D (Apo D): (mol.ağ.32.000) Apo A-III'de denir. HDL proteininin minor kısmıdır. (%5 veya daha az). Diğer LP'lerde de çok az miktarlarda bulunur. Sentezi ve katabolizması ile ilgili bir bilgi yoktur. Fonksiyonu konusunda da transfer proteini olarak görev gördüğü, LP'ler arasında (özellikle VLDL'den HDL'ye veya tersi) kolesterol ester ve TG'lerin taşınmasını sağladığı tahmin edilmektedir. LCAT reaksiyonunu aktive ettiği (büyük olasılıkla spesifik lizolesitin taşıyıcı olarak) gösterilmiştir(39,98).

APOLİPOPROTEİN E (Apo E): (mol.ağ.35.000-39.000). 299 aminoasit kalıntısından oluşmuştur. Argininden zengin Apo E, VLDL ve HDL'nin en önemli bileşenlerindedir. Şilomikronlarda, VLDL, HDL ve daha az miktarlarda LDL'de bulunur(39,67). Genetik olarak E-2, E-3, E-4 olarak üç allelgeni olan polimorfik bir proteindir ve bu allelgenler apo E-2, apo E-3 ve apo E-4 olarak adlandırılırlar(22,56,102,105,107,108). Bu üç proteinin aralarındaki tek fark 112. ve 158. aminoasit kalıntılarındandır. Apo E-2 sistein, apo E-3 sistein ve arginin, apo E-4 bu iki pozisyonda da arginin içerir(35,73,99,104,105,106). Apo E-3 en yaygın olanıdır ve normal apolipoprotein olarak düşünülür(10).

Sentez yeri kuvvetli olasılıkla KC'dir. KC'de sentez edilir, plazmaya yeni oluşan HDL'nin bir parçası olarak katılır. LCAT'ın etkisi altında, HDL kolesterolünü toplar ve Apo E, hızla VLDL ve şilomikronlara transfer olur. VLDL'nin IDL'ye transferi sırasında VLDL'de kalır(98).

FONKSİYONLARI: Barsak orijinli apo B-48 içeren remnantların non-LDL-reseptör yolu ile hızlı katabolizmasında, hepatik orijinli VLDL

remnantlarının hem LDL, hem de non-LDL-reseptör yolu ile hızlı ve direkt katabolizmasında, VLDL remnantlarının yeterli miktarda LDL'ye dönüşümünde, hücre yüzeylerindeki LDL reseptörlerinin miktarının ayarlanmasında gerekli bir faktör olduğundan, hem apo B-48, hemde apo B-100 içeren LP'lerin metabolizmasında (özellikle TG'den zengin LP metabolizmasında) önemli rol oynamaktadır (10,22,31,32, 39,37,98). LDL kolesterol ve apo B konsantrasyonundaki varyasyonlar apo E polimorfizmine bağlıdır(35,80).

APOLİPOPROTEİN (a) (Apo (a)): 4528 aminoasitten oluşmuş bu apolipoprotein LDL'ye benzeyen ve aterosjeniteye yüksek olan LP (a) yapısında, apo B-100'e disülfid bağı ile bağlanmış bir glikoproteindir (2,8,9,10, 27,28,30,60,80,88,101). Apo (a)'nın aminoasit sırası bakımından plazminojen-2 enzimiyle son araştırmalarla gösterilmiştir (10,60,83, 99,100). Apo (a)'nın genetik polimorfizmi incelendiğinde en az yedi alleli bulunduğuna inanılmaktadır(99).

APOLİPOPROTEİN S (Apo S): Apo S normal insan plazmasında eser miktarlarda bulunan akut faz proteini'dir. Bazı hastalıklarda yükseldiği gösterilmiştir.

Visceral-Leishmaniasis (kala-azar'lı çocukların plazmalarındaki miktarı 19-20mg/dl tayin edilebilmiş. ELISA ile ölçülen değerinin %10-30'u, VLDL, %18-20'si LDL-densite bölgesinde, geri kalanı HDL₂ ve HDL₃'e dağılmış olarak bulunmuştur. Ayrıca miktarı apo A-I ve A-II konsantrasyonuna bağlıdır. Elektroforez ("cross-linked immuncassay) yöntemi ile yapılan araştırmalarda apo S'nin apo B içeren LP'lerle de ilişkili olduğu görülmüştür(45).

APOLİPOPROTEİNLERİN LİPOPROTEİN METABOLİZMASINDAKİ FONKSİYONLARI

Şekil 2'de apolipoproteinlerin fonksiyonlarını açıklamak amacıyla LP metabolizmasının basitleştirilmiş şeması görülmektedir(71,79,98). Apo B-100 ve apo B-48 içeren major LP'lerin sınıfları arasındaki metabolik ilişki iki esas bölüme incelenebilir. 1) Eksogen kaynaklı yağların kullanımı. 2) Endojen yağların kullanımı. 1) Eksogen yağların kullanılmasında barsaklarda oluşan şilomikronlar yine barsakta sentez olunan Apo B-48 veya Apo B-100 proteinlerin yapısına alınarak(10,41) dolaşıma salınırlar, hemen sonra HDL'den apo C-II ve apo E'yi alırlar. Apo C II tarafından aktive edilen LPL ile hidrolize uğrayan TG bileşenleri HDL'ye transfer olurken şilomikron remnantları KC'deki reseptörleri tarafından (apo B,E, apo E reseptörleri) alınıp katabolize olurlar. 2) İkinci bölüm hepatic orijinali TG'den zengin VLDL'nin hidrolizidir. KC'den salınan VLDL partikülleri sadece apo B-100 içerirler(24) salınımından hemen sonra HDL'den apo E ve C-II alırlar (barsak menşeyli şilomikronlar gibi). TG'ler LPL etkisiyle hidrolize

olurlar, VLDL'ler sırasıyla IDL ve LDL'ye dönüşürler. Bu bölümün son ürünü LDL, yalnız apo B-100 içerir, KC'de ve periferik hücrelerde ya reseptöre bağlı (E,E reseptörleri) ya da reseptöre bağlı olmayan yollarla katabolize olur(22,34).

HDL, apolipoprotein rezervuarıdır. KC'de ve barsakta sentez edilen HDL dolaşıma salınır, şilomikronların ve VLDL'nin tekrar modellenmesi sırasında kolesterol, fosfolipid ve apolipoprotein transferi neticesinde diskoidal yapı oluşur. Serbest kolesterol LCAT etkisiyle esterleşir, sferik HDL 3'e dönüşür, periferik hücrelerde Apo A-I reseptörlerine bağlanarak daha fazla kolesterol alırlar, HDL₂ halinde KC'de Apo A-I reseptörlerine bağlanır ve kolesterol KC'e taşınmış olur. (Kolesterolün geri transportu) (10,71,79,98).

Tablo 2'de metabolizmada belirtilen fonksiyonların bir özeti görülmektedir(6,10,71,98).

PLAZMA APOPROTEİNLERİNİN FİZYOLOJİK DEĞERLERİ VE LİPOPROTEİNLERE DAĞILIMI

Çeşitli kaynaklardan (39,67,71,98) alınarak derlenen apolipoproteinlerin fizyolojik değerleri (Tablo 3) son zamanlarda, araştırmacıların kontrol gruplarında saptadıkları değerlerle uyum içindedir (11,14,52,63,64,98). Tablo 3'de aynı zamanda apolipoproteinlerin LP'lere dağılım oranları görülmektedir.

Schaefer ve ark(83), HDL ve LDL'nin majör proteinleri olan Apo A-I ve B'nin fizyolojik sınırlarını saptamışlar, plazma LDL kolesterol ve Apo B değerini yasa göre yüksek bulmuşlardır. Bu da LDL reseptörlerinin aktivitesinin ileri yaşlarda azalmasına ve yağlı beslenmeye bağlanabilir (79). Kadınlar a, erkekler göre HDL-kolesterol ve Apo A-I düzeylerinin daha yüksek olması (p<0.001) estrojene bağımlı olarak Apo A-I üretiminin artmasıdır(80,85). Ayrıca yapılan çalışmalarda postmenopozdaki kadınların plazma apo B seviyeleri daha yüksek apo A-I seviyeleri daha düşük bulunmuştur(14). Schaefer ve ark(13) apo B değerlerini orta yağlı erkekler için 100mg/dl (2.59) ve kadınlar için 105mg/dl. Apo A değerlerini ise erkeklerde 105mg/dl (1.80), kadınlarda 110mg/dl (1.80) olarak saptamışlardır. Framingham Offspring (n=3600) çalışmasının sonuçları da bunlarla uyum içindedir.

Javen ve ark(47) yaptıkları çalışmalarda plazma TG değerlerinin apo B ile ve total kolesterol değerlerinin Apo B, HDL kolesterolünün apo A, LDL-kolesterolünün apo B-100 ile ilişkili olduklarını saptamışlardır.

Diyabetik şahıslarda yapılan çalışmalarda, insuline bağımlı olmayan (NIDDM) olgularda normalere oranla apo B, LDL-apo-B, apo B/apo AI değerleri yüksek Apo A-I, HDL₂-apo AI, HDL₂-apo AI, HDL-Apo A-I Apo A-I düzeyleri daha düşük bulunmuştur(64). İyi kontrol edilen ve insuline bağımlı (IDDM) şahıslarda, NIDDM'li ve normalere göre Apo AI düzeyleri daha yüksek bulunmuş (kontrolle bağımlı olarak), fakat tüm diabetiklerde apo B, CIII ve E kontrollara nazaran yüksek saptanmış, ama apo B, çok farklı görülmemiştir(47).

DISLİPOPROTEİNEMİLERDE APOLİPOPROTEİN PROFİLLERİ

Dislipoproteinemilerdeki LP bozuklukları ya katabolik sistemin (enzimler, hücre düzey reseptörleri vs) veya LP partikülünün normal yapısının bozukluğundan ileri gelmektedir. Dislipoproteinemiye neden olan faktörlerini ağırlıklı olarak lipoprotein bozukluğuna neden olan enzim bozuklukları ve genetik faktörler diye sınıflandırabiliriz(65). Genetik faktörler çoğunlukla belirli bir apolipoprotein sentez mekanizmasının bozulmasından ileri gelmektedir(39). Apolipoprotein profillerine göre dislipoproteinemiler üç esas katagoride toplanabilir(67).

1. Plazma apolipoproteinlerinin yokluğu
2. Plazma apolipoprotein yetmezliği
3. Bir veya birkaç apolipoprotein yükselmesi

İlk iki katagoride apolipoprotein ölçümleri yapılarak profillerinin belirlenmesi, bu hastalıkların tanımlanması ve ayrılmasında kesin kriterdir. (Cançier hast. gibi). Fakat büyük kısım teşkil eden hiperlipoproteinemilerin primer veya sekonder olup olmadığı konusunda kesin kriter değildir(38). Apo E polimorfizminin araştırılması, Tip III hiperlipoproteinemi teşhisinde çok yararlı olmaktadır(39). Tablo 4'de yaygın disli dislipoproteinemilerde görülen apolipoprotein bozuklukları özetlenmiştir(67,67).

KORONER KALP HASTALIKLARI MARKER'İ OLARAK APOLİPOPROTEİNLER

30-40 yıldır koroner kalp hastalığı (CHD= Coronary heart disease) riski değerlendirilmesinde kullanılan kolesterol ve trigliserid ölçümlerine, son on senedir HDL, LDL kolesterol ölçümleri eklenmiştir. Son senelerde de serum apolipoproteinleri, HDL subfraksiyonları, LP(a) ve B-VLDL gibi daha duyarlı ve spesifik biyokimyasal markerler üzerinde araştırmalar yapılmaktadır.

Lipoproteinlerdeki lipid dağılımları çalışmaları sırasında bazı lipoproteinlerin kimyasal olarak ayırdedilemez olması, vasküler plak oluşumunda düşük plazma HDL-kolesterol düzeyinin etki mekanizmasının tam

olarak aydınlatılmaması, onların yapılarındaki apolipoproteinlerden ileri gelen yapısal ve fonksiyonel farklılıkların araştırılmasını gerektiriyor ve bunların neticesinde Apo B, Apo AI ölçümlerinin kardiyovasküler hastalık riskinin belirlenmesinde daha kesin indikatörler olduğu kanısına varılmıştır(1,6,10,12,25,29,37,53,56,66,67, 71,77,83,89, 91,92,98).

Apo AI ve Apo B düzeyleri ile ilgili çalışmalarda: Avagaro ve ark(1,3) myokard infarktüsü (MI) ile iskemik kalp hastalıklarının ayırıcı tanısında apo ölçülerinin diğer lipid ölçümlerine göre daha yararlı Desager ve ark(23) ve diğer araştırmacılar(91,105), LDL C ve Apo B değerlerinin CVD şiddeti ile oldukça ilişkili bunlara ilaveten HDL-C ile daha yakından ilişkili olduğunu belirtmişlerdir, HDL-C'un yalnız (46) veya LDL-C ile beraber (62,91,105) CVD için halen teşhiste değerli olduğunu savunmuşlardır. Avagaro ve ark(4) MI geçirenlerin %91'ini Apo değerli olduğunu AI/Apo B oranı hesaplayarak doğru olarak sınıflandırmışlar, Presager ve ark(23) bu oranı kullanarak CVD tahmininde zorluk çekmişlerdir. Koroner anjiyografi yapılan hastalarda apo AI ve B ölçümleri CVD ayırımında yararlı olmasına karşın CVD bakımından tahminde bulunmada lipid fraksiyonlarına göre daha yararlı olduğundan şüpheli olduğu kanısına varmışlardır.

Apo AI ve Apo B oranlarının ateroskleroz riski tespitinde çok yüksek prognostik değeri olduğunu bazı araştırmacılar(85,94) gibi Naitte ve ark(56) koroner arteriografi ile değerlendirilen CAD'li olgularda yaptıkları ölçümlerle ortaya koymuşlardır.

Son birkaç senedir, anjiyografi olarak tanı konmuş CAD'li hastalarda ve myokard infarktüsü sırasında yapılan lipid parametreleri, lipoprotein alt sınıfları ve apolipoprotein ölçümlerinin istatistiksel değerlendirmesi (96) sonunda; HDL-kolesterol, IDL, B-VLDL (96) Apo A-1(7,44,58,71,87) apo B (37,54), apo (a) apo E ölçüm ve polimerizminin (35,67) yararlı CAD markerleri olduğu savunulmakta ve halen araştırmalar yapılmaktadır (63,74).

APOLIPOPROTEİN ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ: Kantitatif yöntemlerin çoğu apolipoproteinlerin immünojenik ayırımına dayanmaktadır (15,19,39,51,57, 67,76, 78,89,90,98).

1. Radioimmünoassay (RIA)
2. Radioimmünodiffüzyon (RID)
3. Elektroimmünoassay ("rocket") (EIA)
4. Enzime-bağlı immünosorbent assay (ELISA)
5. Sıvı immüno-perisipitin assay (LIM)
 - a) Nefelometrik (NIA)
 - b) Türbidimetric (TIA)

6. Floroimmunoassay (FIA)

Daha duyarlı, spesifik, reproduktive otomasyona uyarlanaabilen immunokimyasal yöntemler çok yaygın olarak kullanılmakta beraber, konvansiyonel yöntemlerde (izoelektrik fokuslama (96), poliakrilamid jel elektroforezi gibi) destek sağlamak için kullanılmaktadır(98).

Son senelerde immunokimyasal yöntemlerin kullanılabilirliği ile ilgili birçok ilerilemeler kaydedilmiş ve klinik laboratuvarlara uygulanabilirliği açısından değişik teknikler denenmiştir RIA (58), RID (47,64, 65,96,97), EIA (20,21,42,43,63,74), LIM (89), ELISA (13,90).

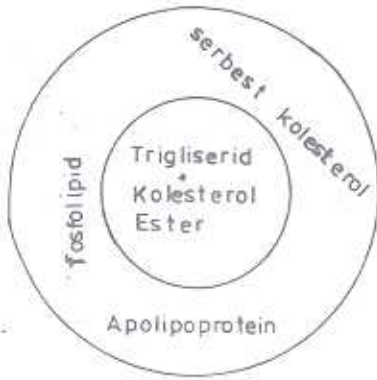
Bütün bu yöntemler zaman alıcıdır ve pahalı cihaz gerektirir. Değişik tıbbi LIM (nefeliometrik ve tübidimetrik) yöntemleri, serum apolipoproteinlerin (apo A-I, B) kantitatif tayini için birçok laboratuvar tarafından tercih edilen hızlı ve basit yöntemlerdir(88). Özel apolipoprotein analizörü ile netice verebildiği gibi en önemli avantajı 340nm dalga boyunda okuma yapabilen spektrofotometrenin de yeterli olmasıdır. Ayrıca bu immünotürbidimetrik yöntemlerle elde edilen neticeler RID ve RIA ile elde edilenlerle uyum içindedir(89).

Apolipoprotein tayin yöntemlerinde en önemli sorun standard hazırlanması ve yöntemin standardizasyonudur(93,98). A-I, B ve E apolipoproteinlerinde polimorfizmeden dolayı biri için üretilen antiserum diğer izoform ile reaksiyona giremeyebilir ayrıca saflaştırılmış apolipoproteinler dayanıksızdırlar (immunoreaktifite zamanla azalır) ve taze hazırlanmalıdır(67).

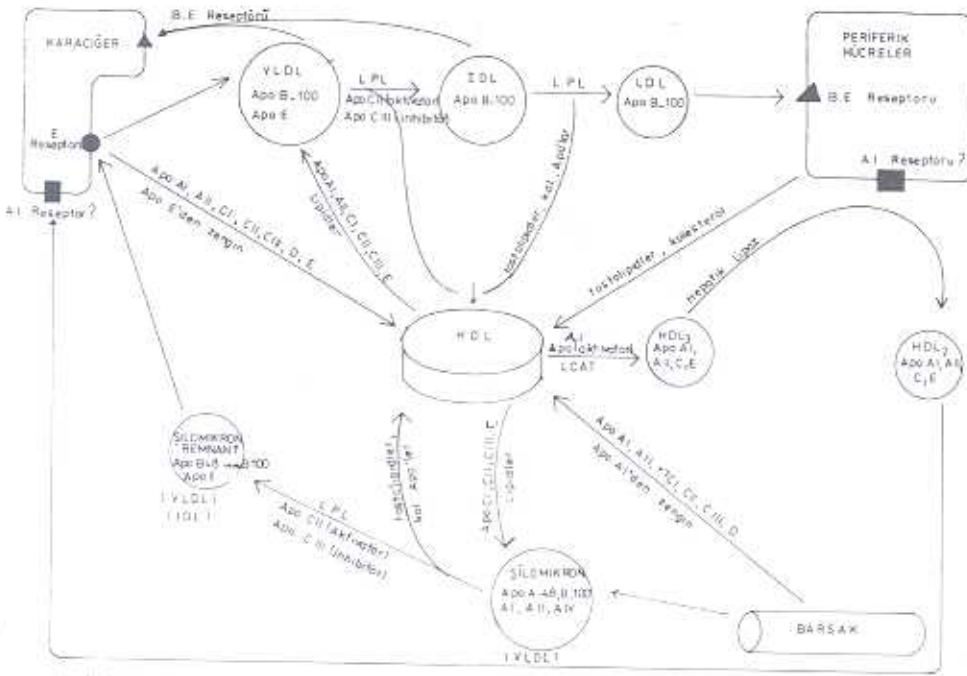
Apolipoproteinlerin standardizasyonu için yapılan uluslararası çalışmalarda tayinmasının kolaylığı, ucuzluğu ve dayanıklılığı bakımından lilyofilize standartlar tercih edilmektedir. Fakat lilyofilize serumların Apo A-I kalibrasyonu için yararlı olmasına karşın, apo B ölçümlerinde laboratuvarlar ve yöntemlerarası farklar saptanmıştır (59,90).

Yeterli kalibrasyon, standardizasyon, protokol ve teknikleri olmadan netice vermemek gerekmektedir. Apolipoprotein standardizasyonu sağlandığı an, ortaya çıkacak sorun, fizyolojik sınırların tesbiti ve CAD riski için sınırların ne olduğudur.

Bütün bu problemlerin halledilmesiyle, apolipoprotein ölçümlerinin, ilaç, diet, egzersiz ayarlanması dolayısıyla hasta sağlığında yararlı olacağı düşünülmektedir.



Sekil 1: Bir lipoprotein partikülünün sistematik olarak gösterilmesi



Sekil 2: Lipoprotein Metabolizmasının Diyagramı

Tablo 1. İnsan plazmasında bulunan apolipoproteinler

Apolipo- proteinler	En fazla bulun- dukları lipoproteinler	Mol.Ağ. K.dalton	Esas sentez yeri
			(KC)
A-I	HDL	28.3	Karaciğer, Barsak
A-II	HD	18	KC
A-IV	Şilomikronlar	46	Barsak
Apo (a)	LDL, HDL	900	KC-Barsak
B-100	Şilomikronlar, VLDL, LDL	500	KC-Barsak
B-48	Şilomikronlar	250	Barsak
C-1	Şilomikronlar, VLDL, HDL	6.5	KC
C-2	Şilomikronlar, VLDL, HDL	8.8	KC
C-3	Şilomikronlar, VLDL, HDL	8.8	KC
D (0,1,2)	HDL	20	?
E	Şilomikronlar, VLDL, HDL	34	KC
F ² -4	HDL	30	?
G	VLDL	75	?
H	Şilomikronlar	45	?
S	VLDL, LDL, HDL	?	?

X-0,1,2: Statik asit kalıntılarının sayısını gösterir

Tablo 2: İnsan plazmasında apolipoproteinlerin fizyolojik fonksiyonları

1. Enzimlerin kofaktörü olarak:	
Lipoprotein Lipaz	C-II
Lesitin-kolesterol çözücü transferaz	A-I
Hepatik Lipaz	A-II
2. Enzimlerin inhibitörü olarak:	
Lipoprotein Lipaz (Şilomikronlar remanentlerinin kullanımında)	C-III
3. Reseptör bağlayıcı olarak:	
Remnant reseptör	E
LDL Reseptör	B-100,E
HDL Reseptör	A-I
4. Lipoprotein partikülünde yapısal protein olarak:	
İntestinal Şilomikron	B-48,B-100
Hepatojen VLDL	B-100
HDL	A-1,A-2

Tablo 3. Plasma apolipoproteinlerinin fizyolojik değerleri ve lipoproteinlere dağılım oranları

Apo-protein	Ort-ng/dl	Ort±20	Şilomik. (%T.Apo)	VLDL %	LDL %	HD ₂ %	HDL %
A-I	121	73-169	3.3	Eser	Eser	65	62
A-II	37	19-55	Eser	Eser	Eser	10	23
A-IV	15	-	14	-	-	?	Eser
Apo(a)	10	-	-	--	--	--	--
B-100	98	58-138	5	25	95		
B-48	5	-					
C-I	7	3-11	--	10		2	
C-II	37	0.5-6.9	55	10		1-2	1
C-3 _{0,1,2}	13	3-20		50		2	
D	6-10					2	4
E	4	2-5	10	15	3	3	1
F	2						
G	?		6	5	5	4	5
H	10						
S	?			10-30	10-20	Eser	Eser

Tablo 4: Yaygın dislipoproteinemilerde görülen apolipoprotein (66) bozuklukları

Dislipoproteinemi Cinsi	Lipoprotein Bozukluğu	Apolipoprotein Bozukluğu
Hiperlipoproteinemiler:		
Tip I	↑↑ Şilomikron	↑↑ B-48
	↓ HDL	↓ A-I (↓) C-II
Tip II	↑↑ LDL	↑↑ B-100
Tip III	↑ Betaya göç eden	↑ B-100
	VLDL	↑ E
Tip IV	↑↑ VLDL	↑↑ B-100
	↓ HDL	↓ A-I
Tip V	↑ Şilomikron	↑ B-48
	↑ VLDL	↑ B-100
	↓ HDL	↓ A-I
	(↓) HDL	(↓) C-II
Hipolipoproteinemi:		
Tangier Hast.	↓↓ HDL	↓↓ A-I ↓ A-II
	↓ HDL	↓ A-I
Hipoalfalipo proteinemi	↑ Şilomikron	(↓) C-II
	↓↓ LDL	↓↓ B-100
Abeta lipo proteinemi	↓ Şilomikron	↓ B-48
	↓ VLDL	(↓) A-I
	(↓) HDL	↓↓ C-III
	↓↓ LDL	↓ B-100
Hipobetalipo proteinemi	(↓) Şilomikron	↓ B-48
	↓ VLDL	(↓) C-III
	↓ HDL	(↓) A-I
	↓ Şilomikron	↑ B-48
Hipobetalipo- proteinemi (Şilomikronemi ile beraber)	↓ LDL	↓ B-100
	↓ HDL	↓ C-III

↓ = azalma,

↑ = artma,

(↓) = bazen azalma,

(↕) = değişken

1. Albers, J.J., Sabana, V.G., Hazzard, W.R.: Immunoassay of human plasma apolipoprotein B. *Metabolism* 1975; 24: 1339.
2. Armstrong V.W., Walli, A.K., Jeydel, D.: Isolation, characterization, and uptake in human fibroblasts of an apo (B)-free lipoprotein obtained reduction of lipoprotein (a). *J Lipid Res* 1985; 26: 1314-23.
3. Avagaro, P., Bittolo, B.G., Cazzolato, G. et al.: Plasma Levels of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B in human atherosclerosis. *Artery* 1978; 4: 385-394.
4. Avagaro, P., Cazzolato, G., Bittolo, B.G. et al.: Lipoprotein-derangement in human atherosclerosis in Nosedà, G; Fumagalli, R., Paoletti, R.(eds-): *Lipoproteins and Coronary Atherosclerosis*. Amsterdam, Elsevier Biomedical 1982; 123-128.
5. Avagaro, P., Bittolo, B.G., Cazzolato, G., Quinci, G.B.: Are Apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis? *Lancet* 1979; 1: 901-903.
6. Baralle, F.E., pagani, F., Sidoli, A.: Apolipoprotein promoter polymorphisms in dyslipidemia. 30th International Conference on the Biochemistry of lipids (Stresa, Italy) Abstracts 1989; 19-.
7. Barbour, W.D., Trayner, L., Baber, V., Thomson, G.R.: High prevalence of hypertriglyceridemia and apolipoprotein abnormalities in coronary artery disease. *Br Heart J* 1988; 60: 397-403.
8. Berg, K.: A New serum type system in man- the Lp system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963; 59: 365-52.
9. Brewer, H.B., Fojo, S.S.: Recent advances in the genetic analysis of apolipoprotein C-II deficiency. 30th International Conference on the Biochemistry of lipids (Italy) Abstracts 1989; 17.
10. Brewer, H.B., Gregg, R.E., Hoeg, J.M., Fojo, S.S.: Apolipoproteins and Lipoproteins in human plasma: an overview *Clin Chem* 1988; 34/8 (B): B4-B8
11. Brown, S.A.; Boerwinkle, E., Kashanian, F.K., Swanson, W., Gatsch, W.: Variation in concentrations of lipids, Lipoprotein lipids and apolipoproteins A-I and B in plasma from healthy women. *Clin Chem* 1990; 36/2: 207-210.
12. Brunzel, J.D., Sniderman, A.D., Albers, J.J., Kwiterovich JrPO: Apoproteins B and A-I and coronary artery disease in humans. *Arteriosclerosis* 1984; 4: 79-83.
13. Campos, H., McNamara, J.R., Wilson, P.W., Ordovas, J.M., Schafer, E.J.: Differences in Low Density Lipoprotein Subfractions and Apolipoproteins in Premenopausal and Postmenopausal Women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67/1: 30-35.
14. Chen, S.H., Habib, G., Yang, C.X. et al.: Apolipoprotein B-48 is the product of a messenger RNA with an organ-specific in frame stop codon. *Science* 1987; 238: 363-6.

15. Cheung, MC., Albers, JJ.: The measurement of apolipoprotein A-1 and A-2 levels in men and women by immunoassay. *J Clin Invest* 1977; 60: 43.
16. Cooper, GR., Myers, GL., Smith, JJ., Sampson, EJ.: Standardization of lipid, lipoprotein, and apolipoprotein measurements. *Clin Chem* 1988; 38(3): B 95-B105.
17. Curry, MD., Alaupovic, P., Juenram, G.: Determination of apolipoprotein A and its constitutive A-I and A-2 polypeptides by separate electroimmunoassays. *Clin Chem* 1976; 22: 315-324.
18. Curry, MD., Gustafson, A., Alaupovic, P., McConathy, WJ., Fesmire, JD., Alaupovic, P.: Quantitative determination of human apolipoprotein C-3 by electroimmunoassay. *Biochim Biophys Acta* 1980; 617: 503.
19. Curry, MD., McConathy, WJ., Alaupovic, P.: Quantitative determination of human apolipoprotein D by electroimmunoassay and radial immunodiffusion. *Biochim Biophys Acta*, 1977; 491: 232.
20. Curry, MD., McConathy, WJ., Alaupovic, P.: Quantitative determination of apolipoprotein C-III by electroimmunoassay. *Biochim Biophys Acta* 1980; 617: 503.
21. Curry, MD., McConathy WJ, Fesmire, JD., Alaupovic, P.: Quantitative determination of apolipoproteins C-I and C-II in human plasma by separate electroimmunoassays. *Clin Chem* 1981; 27: 543.
22. Davignon, J., Gregg, RE., Sing, CF.: Apolipoprotein, E, polymorphism and atherosclerosis (Review) *Arteriosclerosis* 1983; 3: 1-21.
23. Desager, JPM., Rousseau, WF., Harvengt, RC.: Limitations of the predictive value for coronary vascular disease of the plasma lipids and apoproteins A-I, A-II, B levels as measured before coronagraphy in 317 patients. In latent dyslipoproteinemia and atherosclerosis James CL., Polonovski, J., Paoletti, R. Eds Raven Press New York 1984; 165-174.
24. Egde, Jb, Hoeg JM., Schneider, ED., Brewer, JrMB.: Apolipoprotein B synthesis in humans liver synthesizes only Apo B-100. *Metabolism* 1985; 34: 726-30.
25. Fager, G., Wiklund, O., Olofson, JO., Wilhelmssen, L., Bondjers, G.: Multivariate analysis of serum apolipoproteins and risk factors in relation to acute myocardial infarction. *Arteriosclerosis* 1981; 1: 273-279.
26. Fielding, CJ., Shore, VG., Fielding, PE.: A protein cofactor of lecithin: Cholesterol acyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 46: 1493-8.
27. Fless, GM., Zum Mallen, ME, Scanu, AM.: Isolation of apolipoprotein (a) from lipoprotein (a). *J Lipid Res* 1985; 26: 1224-9.
28. Fless, GM., Zum Mallen, ME., Scanu, AM.: Physicochemical properties of apolipoprotein (a) and lipoprotein (a)-derived from the dissociation of human plasma lipoprotein (a). *J Biol Chem* 1986; 261:

8712-B.

29. Furue, H., Assmann, G.: HDL and Atherosclerosis: Implications from genetic and cellular studies. 30th International Conference on the Biochemistry of Lipids (Italy). Abstracts 1982; L10.
30. Geubatz, J.W., Heidenan, C., Gotto, AM., Morrison, J.D., Tahlen, G.H.: Human plasma lipoprotein (a) Structural properties. J Biol Chem 1983; 258: 4582-5.
31. Ghiselli, G., Schafer, E.J., Acon, P. et al.: Type III hyperlipoproteinemia associated with apolipoprotein E deficiency. Science 1983; 214: 1239.
32. Ghiselli, G., Schafer, E.J., Zech, LA., Gregg, RE., Brewer, HB Jr.: Increased prevalence of apolipoprotein E in type V hyperlipoproteinemia. J Clin Invest 1982; 70: 474.
33. Glomset, J.A.: The plasma lecithin: Cholesterol acyl transferase reaction. J Lipid Res 1968; 9: 155-67.
34. Goldstein, J.L., Brown, MS.: The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis (Review). Ann Rev Biochem 1977; 46: 897-939.
35. Gregg, RE., Brewer, HB.: The Role of apolipoprotein E and lipoprotein receptors in modulating the in vivo metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins in human. Clin Chem 1982; 34(8(P)): B28-B32.
36. Havel, R.J., Shore, VC, Shore, B., Bier, DM.: Role of specific glycopeptides of human serum lipoproteins in the activation of lipoprotein C. Circ Res 1970; 27: 595-600.
37. Heisan, G.V., Barboriak, J.J., Jasse, Ea, Yords, DE.: Correlation of the extent of coronary occlusion with Apo E levels: Application of a new enzyme immunoassay technique for Apo E. Atherosclerosis 1984; 50: 29-33.
38. Heiss, G., Tyroler, HA.: Are apolipoproteins useful for evaluating ischemic heart disease? A brief over view of the literature. In proceedings of the workshop of Apolipoprotein Quantification Lipuel K. Ed: 7 NIH Publ No 83-1206, MHLBI Bethesda, Maryland 1983; 22.
39. Henry, J.B.: Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, (Todd, Sanford, Davidsohn), Seventeenth Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1984; 183-197.
40. Herbert, P.L., Assmann, G., Gotto, AM Jr. et al.: Familial lipoprotein deficiency: Abetalipoproteinemia, Hypobetalipoproteinemia, and Tangier disease, in Stanbury JB., Wyngaarden JB., Frederickson, DS., Goldstein, DS., Goldstein, J.L., Brown, MS(eds): The Metabolic Basis of Inherited Disease ed 5. New York. Mc Graw Hill Book Co 1983; 589-660.
41. Higuchi, K., Hospattankar A., Law SV, Meglin, N., Cortright, J., Brewer, Jr. HB.: Human apolipoprotein B(apo B) mRNA: Identification of two distinct ap mRNA, an mRNA, with the apo B-100 sequence and an apo B mRNA containing a premature in-frame translational stop

- codon in both liver and intestine Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85: 1772-6.
42. Holmquist, L.: Quantitation of human low density apolipoproteins C₂, C₃ and E by enzyme immunoassay J Immunol Methods 1980; 34: 254-255.
 43. Holmquist, L.: Quantitation of human serum apolipoprotein B by enzyme immunoassay. Clin Chim Acta 1982; 121: 327-336.
 44. Ishikawa, T., Fidge, N., Thelle, DS., Forda, CH., Miller, NE.: The Troms and heart study: Serum apolipoprotein A-I concentration in relation future coronary heart disease Eur J Clin Invest 1978; 8: 179.
 45. Jarvier, MA., Besker, ED., Hale, E., DuBilis, DY., Lentui, JF., Kallal, B., Malmendier, CL.: Apolipoprotein S in lipoprotein Density classes in infantile visceral leishmaniasis. 30 th International Conference of the IUGA, Abstract Spt 1989; 10.
 46. Jenkins, FT., Harper, RW., Nestel, PJ.: Severity of coronary atherosclerosis related to lipoprotein concentrations. Br Med J 1978; 2: 388-391.
 47. Joven, J., Miella, S., Coats, B., Turner, PR., Richard, C., Masane, L.: Concentrations of lipids and apolipoproteins in patients with clinically well-controlled insulin-Dependent and non-insulin-dependent Diabetes Clin Chem 1989; 35/5: 813-816.
 48. Kane, JP.: Apolipoprotein B.: Structural and metabolic heterogeneity (Review) Ann Rev Physiol 1983; 45: 837-50.
 49. Kane, JP., Harman, DA., Paulus, HE.: Heterogeneity of apolipoprotein B.: Isolation of a new species from human chylomicrons. Proc Natl Acad Sci USA 1980; 77: 246, 75.
 50. Karathanais, EK.: Apolipoprotein multigene family: Tandem organization of human apolipoprotein A-I, C-III and A-IV genes. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 8374-8378.
 51. Kashyap, ML., Srivastava, LS., Eber, CY. et al.: Radioimmunoassay of human apolipoprotein CII A study of normal hypertriglyceridemic subjects. J Clin Invest 1977; 60: 171-180.
 52. Kortland, W., Benabou, C., Erkelens, DW., JHH.: A simple method for the measurement of total and glycated apolipoprotein B and its relevance to apolipoprotein-b metabolism in diabetes mellitus. Clinical Chimica Acta 1989-1986; 109-118.
 53. Kottke, BA., et al.: "Apolipoproteins and coronary artery disease" Mayo Clin Proc 1986; 61: 313-320.
 54. Kwiterovich, PO., Hyppraup, E.: A pleiotropic phenotype characterized by dense low-density lipoproteins and associated with coronary artery disease. Clin Chem 1988; 34/8(B): 871-877.
 55. LaRosa, JC., Levy, RI., Herbert, P. et al.: A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. Biochem Biophys Res Commun 1970; 41: 57-62.
 56. Lipid Research Clinics Program: The lipid research clinics coronary

- primary prevention results-II. The Relationship of Reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering JAMA 1984; 251: 365-376.
57. Lopez-Virella MFL, Virella, G., Svanga, G., Melnick, JB., Colwell, JA.: Immunochemical assay of human apolipoprotein. J Clin Invest 1981; 67: 1441.
 58. Maciejko, JJ., Holmas, DR., Kottke, BA., Zinsmeister, AR., Dinz, DW., Mao, S.J.T.: Apolipoprotein A-1 as a marker of angiographically assessed coronary artery disease. N Engl J Med 1983; 309: 385-389.
 59. Marcovina, JM., Adolphson, JL., Parlavecchia, M., Albers, JJ.: Effects of lyophilization of serum on the measurement of Apolipoproteins A-I and B. Clin Chem 1990; 36/2366-369.
 60. Melean, JW., Tomlinson, JE., Kuang, W-J. et al.: cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen Nature 1987; 330: 132-7.
 61. Miller, GJ., Miller, NR.: Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischaemic heart disease. Lancet 1975; 16-19.
 62. Moore, RB., Long, JM., Matts, JP. et al.: Plasma lipoproteins and coronary arteriography in subjects in the program on the surgical control of the hyperlipidemias. Atherosclerosis 1979; 32: 108.
 63. Muhtaseb, N., Hayat, N., Khafaji, M.: Lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. Atherosclerosis. 1989; 77: 131-138.
 64. Muhtaseb, N., Yusuf, AR., Abdella, N., Fenech, F.: Lipoproteins and apolipoproteins in young nonobese Arab Women with NIDDM treated with insulin. Diabetes care 1989; 12: 325-31.
 65. Nusliner, TA., Krauss, RM.: Lipoprotein subpecies and risk of coronary disease. Clin Chem 1988; 34/8(8), 878-883.
 66. Naito, HK.: The Association of serum lipids, lipoproteins, and apolipoproteins with coronary artery disease assessed by coronary arteriography (Review). Ann NY Acad Sci 1985; 454: 230-8.
 67. Naito, HK.: The Clinical significance of apolipoprotein measurements. J Clin immunoassay 1986; 9: 11-19.
 68. Norum, RA., Loxner, JB., Goldstein, S. et al.: Familial deficiency of apolipoproteins A-I and and precocious coronary-artery disease. N Engl J Med 1982; 306: 1516-9.
 69. Oram, JF., Brinton, E., Bierman, EL.: Regulation of lipoprotein receptor activity in cultured human skin fibroblasts and human arterial smooth muscle cells J Clin Invest 1983; 72: 1611-22.
 70. Ortavay, JM., Peterson, JP., Santianiello, P., Cohn, JS., Wilson, PWF., Schafir, EJ.: Enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein. BJ lipid 1987; 28: 1216-24.
 71. Ortavay, JM., Schafir, EJ.: Coronary artery disease, lipid disorders and genetic polymorphisms. Ann Biol Clin 1988; 46: 24-29.
 72. Osborne, JrJC., Brewer, JrHB.: The plasma lipoproteins (Review). Adv Protein Chem 1977; 31: 253-337.

73. Paganani, A., Navel, R.J., Kane, J.P. et al.: Characterization of human low very density lipoproteins containing two electrophoretic populations: Double pre-beta lipoproteinemia. *J Lipid Res* 1977; 18: 613.
74. Fowel, L.V., Wallis, S.C., Pease, R.J., Edwards, G., Knott, G., et al., J.A.: A novel form of tissue specific RNA processing produces apolipoprotein B-48 in intestine. *Cell* 1987; 49: 931-40.
75. Korova, S., Aingorn, I., Metelkaya, V., Danilova, I., Seidman, J.: Plasma lipid and Apolipoprotein levels in patients with coronary artery disease predisposed to coronary heart disease. *Acta Medica Scandinavica* 1981; 109: 553-552.
76. Press, D.V., Wilding, P.: Effect of glycation of low-density lipoprotein on the immunological determination of apolipoprotein. *B. Clin Chem* 1989; 35/11: 2219-2223.
77. Meisen, W.P., Mordasini, R., Salzman, C., Thaler, A., Gurtner, J.: Apolipoproteins and lipids as discriminators of severity of coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1980; 35: 122-128.
78. Rosensen, M., Vercautels, B., Steinberg, M., et al.: Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein B immunoassays. *Clin Chem* 1982; 29: 4: 433.
79. Baxter, A.M., Brindley, D.N.: The Biochemistry of lipoproteins. *J Geriatr Dis* 1980; 11: 4-17.
80. Landkane, M., Funke, H., Schulte, M., Kehler, E., Assman, G.: Lipoprotein (a) is an independent risk faktor for myocardial infarction at a young age. *Clin Chem* 1990; 36/1: 20-23.
81. Icmu, A.M., Landsberger, F.R.: Lipoprotein Structure. *Ann NY Acad Sci* 1983; 348: 1-236.
82. Schafer, E.J., Foster, D.A., Zech, L.A., Brewer, Jr. H.B., Levy, R.I.: The effect of estrogen administration on plasma lipoprotein metabolism in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 67: 262-70.
83. Schafer, E.J., McNamee, J.R., Genest, J., Ordovas, J.M.: Genetics and abnormalities in metabolism of lipoprotein. *Clin Chem* 1988; 34/891B1, 89-912.
84. Schafer, E.J., Ordovas, J.M., Law SW. et al.: Familial apolipoprotein A-I and C-III deficiency variant II. *J Lipid Res* 1982; 23: 107-110.
85. Schafer, E.J., Zech, M.A., Jenkins, H. et al.: Human apolipoprotein A-I and A-II metabolism. *J Lipid Res* 1982; 23: 850-82.
86. Schmitz, G., Bobenek, H., Lehmann, J., Baumann, H.: Interaction of high density lipoproteins with cholesterol ester macrophages: biochemical and morphological characterization of cell surface binding, endocytosis and resecretion of high density lipoproteins by macrophages (Review) *EMBO J* 1985; 4: 813-22.
87. Schonfeld, G., George, P.K., Miller, G., Reilly, P., Witztum, J.: Apolipoprotein C-II and C-III levels in hyperlipoprotein Metabolism 1979; 28: 1001.

88. Seman, L.J., Breckendridge, W.C.: Isolation and partial characterization of apolipoprotein (a) *Biochem Cell Biol* 1988; 54: 999-1009.
89. Slutzky, G.M., Inbar, M.: Lipoproteins, apolipoproteins and cholesterol in cardiovascular disease *ACPR* 1987; 19-23.
90. Smith, S.J., Henderson, L.O., Hannon, W.H., Cooper, G.R.: Effects of analytical method and lyophilized sera on measurements of apolipoproteins A-I and B: International survey *Clin Chem* 1990; 36/2: 290-296.
91. Sneiderman, A., et al.: Association of coronary atherosclerosis with hyperapobeta lipoproteinemia (increased protein but normal cholesterol levels in human plasma low density (beta) lipoproteins) *Proc. Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 604-608.
92. Sneiderman, A.D., Shanley, P., Goble, G., Skinner, E., Tang, S., Kuznetsov, P.O.: Association of coronary atherosclerosis with hyperapobetalipoproteinemia (increased protein but normal cholesterol levels in human plasma low density lipoproteins) *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 604.
93. Srinivasan, K.K., Connor, W.R., Graiser, S.R., et al.: Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein A-I immunoassays. *Clin Chem* 1983; 29: 415-426.
94. Srinivasan, W.A., Van, H.J., et al.: Is the ratio of apo B to apo AI an early predictor of coronary atherosclerosis? *Atherosclerosis* 1986; 62: 179-182.
95. Suzuki, N., Fidge, N., Nestel, P., Yin, J.: Interaction of serum lipoproteins with the intestine: Evidence for sites on isolated rat intestinal binding sites on isolated rat intestinal mucosal cells. *J Lipid Res* 1983; 24: 253-264.
96. Swinkels, D.W., Demacker, P.N.M., Hendriks, S.C.M., Breininemeyer, B.T., Stuyth, P.M.J.: The relevance of a protein-enriched low density lipoprotein as a risk for coronary heart disease in relation to other known risk factors *Atherosclerosis* 1989; 77: 59-67.
97. Tazaki, H., Nakashima, Y., Nantade, T.T., Yashiro, A., Mawashima, T., Kuroiwa, A.: Comparison of serum lipid values in variant angina pectoris and coronary artery disease with normal subjects. *Am J Cardiol* 1989; 63: 1441-1445.
98. Tietz, N.W.: *Fundamentals of clinical chemistry* Third Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia 1987; 453-479.
99. Utermann, G.: Genetics of the atherogenic Lp(a) lipoprotein, 30th International conference on the Biochemistry of Lipids (Italy), Abstracts 1989.
100. Utermann, G., Feussner, G., Francheschini, G., Haaf, T., Steinmetz, A.: Genetic variants of group A apolipoproteins: Lipid methods for screening and characterization without ultracentrifugation *J Biol Chem* 1988; 263: 501-7.
101. Utermann, G., Menzel, H.J., Kraft, H.G., Gubka, H.C., Kremmler, H.G.,

- Seitz, H.: Lipid glycoprotein phenotypes inheritance and relation to the lipoprotein concentration in plasma. *Clin Invest* 1987; 60: 458-67.
102. Utermann, G., Vogelberg, KH., Steinmetz, A.: Polymorphism of apolipoprotein B-II: Genetics of hyperlipoproteinemia type III *Clin Genet* 1979; 15: 37-62.
103. Varley, H., Gowenlock, A., Bell, M.: *Practical Clinical Biochemistry* (fifth edition, William Heinemann Medical Books LTD, London 1979; 1: 632.
104. Weinreb, ZH., Goll, 1980, Marley, SW.: Amino acid heterogeneity cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo B isoforms. *J Biol Chem* 1981; 256: 8077-81.
105. Whayne, JF., Alauovic, P., Curry, MD., Lee, ET., Anderson, PS., Schenker, S.: Plasma apolipoprotein B and VLDL-and LDL and HDL-cholesterol as risk factors in the development of coronary artery disease in male patients examined by angiography. *Atherosclerosis* 1981; 39: 41-24.
106. Zannis, M., Breslow, JL.: Characterization of a unique human apolipoprotein B variant associated with Type III hyperlipoproteinemia. *J Biol Chem* 1980; 255: 1759.
107. Zannis, M., Breslow, JL.: Human very low density lipoprotein apolipoprotein B (protein polymorphism is explained by genetic variation and post-translational modification. *Biochemistry* 1981; 20: 3033.
108. Zannis, M., Breslow, JL.: Apolipoprotein B mol. Cell Biochem 1982; 42: 1-23.