

LİPİD PARAMETRELERİNİN ÖLÇÜMÜNDE TOTAL, BİYOLOJİK VE ANALİTİK DEĞİŞKENLİĞİN ETKİSİ

Melahat DİRİCAN, Hatice Asuman TOKULLUGİL

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı

ÖZET

Test değişkenliğinin analitik ve biyolojik değişkenlik olmak üzere iki bileşeni vardır. Lipid ve lipoprotein ölçümlerinde en büyük değişkenlik kaynağı biyolojik değişkenliktir. Değişkenliğin azaltılması ile koroner kalp hastalığı riskinin daha doğru olarak saptanması mümkün olur. HDL-K ölçümünde test değişkenliğini arttıran analitik değişkenliktir. Oysa trigliserid ölçümünün değişkenliği büyük oranda biyolojik değişkenlik sonucudur. Lipid, lipoprotein ve apolipoprotein ölçümlerinin değişkenliğinin azaltılması için (özellikle biyolojik değişkenliği büyük olan parametreler için) kişiden birden fazla sayıda örnek alınması önerilmektedir. Burada, daha doğru sonuçlar elde etmek için yapılması gerekenler, uygulanabilir pratik yaklaşımlar anlatılmaya çalışılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Biyolojik değişkenlik, analitik değişkenlik, kolesterol, trigliserit, lipoproteinler, apolipoproteinler.*

SUMMARY

The test variability has two components: analytical variability and biological variability. Biological variation constitutes a major proportion of the total variation in lipid and lipoprotein measurements. If variability is decreased, coronary heart disease risk assessment might be more accurate. Measurement of serum HDL-C has high analytical relative to biological variability. But serum triglyceride measurements are associated with biological variability much more. Multiple sampling is recommended in order to reduce the variability of the lipid, lipoprotein and apolipoprotein measurements. This is true particularly for the parameters which have high biological variability. In this article, in order to get more accurate measurement results, what should be done and to reach the objective, some of the applicable practical approaches are reviewed and discussed.

Key words: *Biological variability, analytical variability, cholesterol, triglyceride, lipoproteins, apolipoproteins.*

Koroner kalp hastalıkları (KKH), erişkinlerde en sık ölüm nedenlerinden biridir. Bu hastalık için önlenabilir risk faktörlerinin başında sigara içimi, hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gelmektedir. Plazma total kolesterol miktarının 2/3'ünü düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) oluşturur. LDL'nin % 80'i lipid ve % 20'si proteindir. LDL, lipidlerinin yarısını kolesterol oluşturur ve LDL aterojenik lipoprotein olarak kabul edilir. Major apolipoproteini (apo) apo B-100'dür. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'nin ise % 50'si lipid ve % 50'si ise proteindir. HDL diferansiyel ultrasentrifüjle iki alt fraksiyona ayrılır: HDL₂ (dansitesi 1.063-1.110 g/mL) ve HDL₃ (dansitesi 1.110-1.210

g/mL). HDL₂ subfraksiyonu düşük olan kişilerin KKH'na yakalanma riski daha yüksektir. HDL ters kolesterol taşınımında büyük rol oynar ve onun bu etkisi KKH'ndan korunmadaki rolünün temelini oluşturur (1). Total kolesterol (TK) değeri KKH riskinin saptanmasında düşük dansiteli lipoprotein-kolesterole (LDL-K) göre giderek daha az değer taşımaktadır. LDL-K'ün KKH için daha duyarlı bir gösterge olduğu kabul görmektedir ve diyet/ilaçla tedavinin takibinde LDL-K düzeyinin dikkate alınması gerektiği önerilmektedir.

Diğer yandan yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K) düzeyi de KKH için negatif bir risk faktörüdür ve HDL-K düzeylerindeki

küçük değişimlerin doğru ve hassas bir şekilde saptanması gerekir. Ayrıca son yıllarda atheroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olduğu düşünülen lipoprotein (a) [Lp (a)]'nin ölçümü de önem kazanmıştır. Lp (a) lipoprotein elektroforezinde pre-b bölgesinde bulunan kolesterolden zengin bir lipoproteindir. Plazmada oldukça geniş sınırlar içinde bulunur. Lipid içeriği LDL' ninkine benzer fakat protein içeriği farklıdır. İki major proteini vardır: apo B-100 ve apo (a). Apo (a) yapısal olarak plazminojene benzeyen bir glikoproteindir. LP(a)'nın içerdiği kolesterol miktarı plazma total kolesterolünün % 15'inden daha azdır. Lp (a)'nın atherojenitesi kolesterol içeriğinden ziyade apo (a) ile ilişkilidir (2,3). Tanıda ve tedavinin izlenmesinde, lipid parametrelerinin ölçümü ve değerlendirilmesinde analitik ve biyolojik değişkenlik kavramlarının da göz önünde bulundurulması ve ona göre yorumlanması gerekir. Burada, lipid ölçümlerinde analitik ve biyolojik değişkenlik kavramları ve klinik kullanımdaki etkileri; ve ayrıca bu değişkenliklerin azaltılmasına yönelik girişimler incelenecektir.

I - LİPID PARAMETRELERİNİN ÖLÇÜMÜNDE TOTAL DEĞİŞKENLİK, ANALİTİK DEĞİŞKENLİK VE BİYOLOJİK DEĞİŞKENLİK KAVRAMLARI
Serum lipidlerinde, ölçüm öncesi kaynaklara bağlı olarak meydana gelen değişimler klinisyenlerin ve biyokimyacıların ilgisini daha fazla çekmeye başlamıştır. Çünkü bu kaynaklara bağlı olan değişim, total değişimin yarısından fazlasını oluşturmaktadır (4, 5).

Lipid ve lipoprotein ölçümlerinde total değişkenlik iki faktörü kapsar: Biyolojik değişkenlik

ve analitik (ölçüme bağlı) değişkenlik. Total değişkenlik, biyolojik değişkenlik ve analitik değişkenliğin toplamına eşittir ve şu şekilde formüle edilir:

$$\text{Total değişkenlik (Standart sapma}_{\text{total}}^2) = \text{St. sapma}_{\text{biyolojik}}^2 + \text{St. sapma}_{\text{analitik}}^2$$

Değişkenlik, değişme katsayısı (Coefficient of variation, CV) olarak da ifade edilebilir ve böylece toplam değişkenlik ($CV_T = (CV_{\text{analitik}}^2 + CV_{\text{biyolojik}}^2)^{1/2}$) olarak tanımlanabilir (6).

Genel olarak bir testin CV_T 'ini azaltmak amacıyla üç yaklaşım önerilmektedir: Birincisi, laboratuvarında deneyin güvenilirliğinin iyileştirilmesi, yani CV_a 'nın azaltılmasıdır. Biyolojik değişkenlik (CV_b) sabit kabul edildiğinde analitik değişkenliğin düşürülmesi CV_T 'i de azaltır. Ancak belli bir değerden sonra CV_a 'nın azaltılması CV_T 'in azalmasına pek yarar sağlamaz; örneğin, trigliserit (TG) ve total kolesterol (TK) ölçümlerinde CV_a 'nın %3 ve daha az olması CV_T 'de ek bir iyileşme yaratmaz. Diğer yandan yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol (HDL-K) ve düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) için CV_a 'nın katkısı CV_b 'ye göre daha yüksektir ve dolayısıyla CV_a 'nın azaltılması CV_T 'in iyileşmesine katkı sağlar. CV_a 'nın azaltılmasına alternatif bir diğer yol deneyin iki veya üç kez tekrarlanması ve ortalamanın kullanılmasıdır. Bu yaklaşım araştırma çalışmalarında kullanılmaktadır, ancak rutin uygulama için pek kullanışlı değildir.

CV_T 'in azaltılmasında ikinci yol CV_b 'nin azaltılmasıdır. Lipid ölçümlerinde biyolojik değişkenliği etkileyen çok sayıda faktör vardır. Bunlar; sigara içimi, egzersiz, tedavi değişiklik-

leri, hastalık, gebelik, numune alımı sırasında postürdeki farklılıklar, turnike uygulanım süresi, mevsimsel farklılık, açlık süresi, diyet alışkanlığının değiştirilmesi, vücut ağırlığındaki değişimler ve alkol alımı gibi faktörleri kapsar (7, 8).

Üçüncü yaklaşım kişiden belli aralıklarla numune alınması ve elde edilen değerlerin ortalamasının kullanılmasıdır. Böylelikle test değişkenliği, CV_T 'in tekrar etme sayısının kare köküne bölümü kadar azalır ($CV_T / \text{analiz sayısı}^{1/2}$). Örneğin, dört kez numune alınarak çalışıldığında total CV'nin yarıya düşmesi mümkün olabilir (7). TK ve HDL-K için en yüksek değişkenliği yakalayabilmek için gerekli minimum sürenin 2-3 hafta olduğu saptanmıştır (9).

Biyolojik değişkenliğin (CV_b) saptanması için aynı kişiden çok sayıda örnek alınır ve ilgili parametre çalışılarak standart sapma $\times 100$ /aritmetik ortalama formülü ile %CV hesaplanır. Analitik değişkenlik (CV_a) ise genellikle kalite kontrol örneklerinin veya herhangi bir örneğin çok sayıda çalışılması ve yine aynı formül kullanılarak hesaplanması sonucu elde edilir.

Total test değişkenliği (CV_T), analitik ve biyolojik değişkenliğin yanı sıra örnek alım sayısı (ÖS) ve alınan örneklerin analiz sayısı (AS) ile de ilgilidir. Çok sayıda örnek alınması, biyolojik değişkenliği $1/\text{ÖS}$ oranında azaltır. Analitik değişkenlik ise $1/\text{ÖS} \times 1/\text{AS}$ oranında azalır. Sonuçta total değişkenlik $(CV_T)^2 = (CV_a)^2 / \text{ÖS} \cdot \text{AS} + (CV_b)^2 / \text{ÖS}$ şeklinde ifade edilir (4).

Smith ve arkadaşlarının, 1970-1992 yılları arasında yayınlanmış 30 çalışmayı içeren veri analizi çalışmasında CV_b değerleri TK için

%6.1, TG için %22.6, HDL-K için %7.4 ve LDL-K için %9.5 olarak bulunmuştur (10). Bu değerler Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Programme, NCEP) tarafından kabul edilen veya olması istenen CV_a performans değerlerinden (TK için %3, TG için %5, HDL-K için %6 ve LDL-K için %4) oldukça büyüktür (11,12).

Yöntemlerdeki, cihaz ve kalibrasyon materyallerindeki iyileşmeler lipid ölçümlerinin CV_b değerlerini oldukça azaltmıştır (13). Bu gelişmelerin sonucu olarak artık biyolojik değişkenliği azaltma yönünde çaba gösterilmesi ve böylece total değişkenliğin azaltılması önem kazanmaktadır. Bu amaçla önerilen bir yöntemde, nispi dağılım (Relative Range, RR) hesaplanır ve bu değer klinisyenin veya laboratuvar sorumlusunun ilgili lipid parametresinin CV_b 'sini kalitatif olarak değerlendirmesine olanak sağlar. RR, bir kişide saptanan en düşük ve en yüksek konsantrasyon arasındaki farkın, tüm değerlerin ortalamasına bölümü olarak tanımlanır. RR incelemesi için bir kişiden iki veya daha fazla sayıda örnek alınır ve ilgili parametre ölçülür. Toplumda RR değerlerinin dağılımı ve 95. persentil değeri saptanır ve kişiden elde edilen RR değeri bununla kıyaslanır. Eğer elde edilen değer 95. persentil değerinden büyükse, umulandan veya beklenenden daha yüksek CV_b 'ye sahip olduğu sonucuna varılır ve kişiden daha fazla sayıda örnek alımı yoluna gidilir (4, 14).

Numune alımı sırasında kişinin postürü ve alım öncesindeki dinlenme süresi CV_b 'ye etki eden faktörlerdendir. Postürel değişiklikler plazma hacminde kaymalara yol açarak lipid konsant-

rasyonlarını etkiler. Genel etki tüm lipid parametrelerinde [(TK, TG, HDL-K, apolipoprotein A-I ve B, lipoprotein (a)] aynı yöndedir; otururken azalma, ayağa kalkınca artış. Ancak her parametre için değişim derecesinin (büyüklüğünün) farklı olduğu bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni açık değildir ancak olayın sadece dilüsyonla ilgili olmadığını düşündürmektedir(15). Bu olayla sempatik sinir sisteminin ilgisi olabileceği sanılmaktadır (16). Postüral farklılığın etkisini azaltmak için kişinin örnek alınımından önce yaklaşık 20 dakika kadar oturtulması ve hep aynı pozisyonda örnek alınması önerilmektedir (15).

Güvenilir ve doğru ölçüm her zaman hedefdir. Lipid parametrelerinin doğru ve güvenilir olarak ölçümü bazı durumlarda daha da önem kazanır:

1. İlgili lipid parametresiyle hastalık ilişkisi [örn. koroner kalp hastalığı (KKH) arasında sıkı bir ilişki] varsa,
2. Ölçümü yapılan parametrenin sonucuna göre tedavi takibi yapılıyor ve özellikle tedavinin etkisinin az olacağı bekleniyor ve bu ölçülmeye çalışılıyorsa (Örn. diyet tedavisi sonucu LDL-K düzeyinde %10'luk azalma olabilir. Bu nedenle CV_T'in <%5 olması gerekir ki bu azalma doğru şekilde saptanabilsin) (7).

II - ÇEŞİTLİ LİPID PARAMETRELERİNİN ÖLÇÜMÜNÜN ÖNEMİ VE DEĞİŞKENLİĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ:

Total kolesterol: Total kolesterol düzeyi tedavi izlenmesinde pek kullanılmaz. Ancak hiperkolesterolemi tanısında kullanılan başlıca parametredir (17, 18). Ayrıca LDL-K düzeyinin Friedewald formülüne göre hesaplanabilmesi için TK düzeyi kullanılır. KKH'lığına yakalanma riski-

nin saptanmasında kullanılan sınıflamaya göre: plazma TK düzeyi <200 mg/dL ise normal (arzu edilir durum), 200-239 mg/dL ise sınırdaki yüksek ve > 240 mg/dL ise yüksek risk olarak tanımlanmıştır (19, 20).

Günümüzde bir çok laboratuvar TK ölçümünde CV_a değerini %3'den daha küçük değere azaltmıştır. Daha ileri azaltma CV_T'e ek bir iyileşme getirmez. Bu nedenle biyolojik değişkenliğin azaltılması anlam kazanır. CV_T'in %6'dan küçük olması, gerek hiperkolesterolemi tanısının konmasında, gerekse LDL-K hesaplamasında hatayı oldukça azaltacaktır.

Trigliserid: Serum TG düzeyi 1000 mg/dL'yi aşan kişiler pankreatit riski taşırlar, bu nedenle 500 mg/dL'den daha yüksek TG düzeyine sahip olanların saptanması ve tedavi için gerekli girişimlerin yapılması gerekir. Orta derecede hipertrigliseridemik (250-500 mg/dL) olanlar diyetle ve/veya ilaçla tedavi edilmelidir. KKH riskini azaltmak için serum TG düzeyinin de azaltılması önerilir (21). Serum TG düzeyinin doğru ölçülmesini gerektiren önemli bir diğer nokta ise, serum TG değerinden VLDL-K'ün saptanması ve dolayısıyla Friedewald formülünden LDL-K'ün hesaplanmasında kullanılmasıdır. TG, oldukça yüksek biyolojik değişkenliğe (>%20) sahiptir (22-24). Hipertrigliseri demi tedavisinde kullanılan ilaçlar (gemfibrozil ve niyasin gibi) % 25-40 oranında azalma yaratabilirler (25). Bu azalmanın güvenilir olarak takibi için CV_T'in % 12.5'den daha küçük olması gerekir. Görüldüğü gibi, biyolojik değişkenliğin azaltılması hedef CV_T'in

yakalanabilmesi için şarttır. Aynı kişiden aralıklarla birden fazla sayıda örnek alınması CV_T'in iyileştirilmesine katkı sağlar.

HDL-K: HDL-K düzeyi ile KKH riski arasında güçlü bir negatif ilişki vardır (26,27). HDL-K, KKH için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir (28). HDL-K düzeyinin 60 mg/dL ve daha yüksek olması KKH için negatif risk faktörü olarak kabul edilirken; 35 mg/dL'den daha düşük olması da pozitif risk faktörü olarak kabul edilmektedir (20). Hiperlipidemi tedavisinde kullanılan gemfibrozil, niasin gibi ilaçların ve östrojenin HDL-K üzerine etkisi % 10-31 arasındadır ve dolayısıyla HDL-K düzeyindeki 5 mg/dL'lik değişimin güvenilir bir şekilde ölçülmesi gerekir (29,30).

HDL-K ölçümünde iki basamak vardır: Birincisinde apolipoprotein B içeren lipoproteinler çöktürülür. İkinci aşamada süpernatandaki kolesterol ölçülür. İlk basamak oldukça fazla oranda hatalara yol açabilen bir aşamadır ve laboratuvarlar arası CV_a % 9-38 gibi büyük rakamlardır (31,32). HDL-K ölçümünde CV_T'nin 2/3 ü CV_a nedeniyledir. CV_T'nin <%5 düzeyine indirilmesi için farklı zamanlarda (2 hafta aralık öneriliyor) 3 veya 4 örnek alıp her bir örneğin 3 kez çalışılması gerekir (7).

LDL-K: KKH riskinin tayin edilmesinde oldukça önemli bir parametredir. LDL-K ün %1 azaltılması KKH insidansının %2 azalmasına yol açar (7). LDL-K düzeyi 130 mg/dL'den düşük ise normal, 130-159 mg/dL ise sınırda yüksek ve 160 mg/dL ve üzerinde ise yüksek olarak sınıflandırılır (19,20). Diyet tedavisi LDL-K'de

% 10-15 azalma yaratırken, hidrosimetil glutaril koenzim A redüktaz inhibitörleri % 30 ve daha fazla azalma sağlayabilirler (33). Diyetin % 10 fark yaratabileceği göz önünde bulundurulduğunda CV_T'nin % 5'den küçük olması gerektiği görülür.

LDL-K düzeyi, serum TG değeri 400 mg/dL den küçükse Friedewald formülüyle hesaplanabilir. Bu formül kullanıldığında TK, TG ve HDL-K ölçümündeki hatalar, sonucu direkt olarak etkiler. Güvenilirliği yüksek olan laboratuvarlarda (CV_a değeri TK için < %3, HDL-K için < %5 ve TG için < %3) bile LDL-K ün CV_a değeri < %5, CV_b değeri % 6-10 ve CV_T değeri ise yaklaşık % 11 civarındadır (23,24). (Buna en büyük katkıyı HDL-K ün CV_a değeri sağlar). CV_T in %5 in altına indirilmesi için kişiden aralıklarla 5 kan örneğinin alınması gerekir (7). Friedewald formülünü kullanmayıp LDL-K'ü direkt ölçen yöntemler de vardır. Ultrasantrifüj dışındaki bu yöntemlerin CV_T değerlerinin Friedewald formülü kullanılarak elde edilen değerden pek farklı olmadığı bulunmuştur. Ultra santrifüj ise rutin kullanıma uygun değildir (34).

Apolipoproteinler: Apo A-I ve B'nin biyolojik değişkenliğine ilişkin az sayıda çalışma vardır. Marcovina ve arkadaşlarının 20 sağlıklı kişide yaptıkları çalışmada apo A-I için CV_b % 6.2, apo B için % 7.4 olarak saptanmıştır (6). Kafonek ve arkadaşları bu değerleri % 7.1 ve % 6.4, Wassenius ve arkadaşları ise yaklaşık % 9-10 civarında olduğunu bildirmişlerdir (35,36). Apolipoproteinler için analitik değişkenliğin % 3 ile 6.7 arasında olduğu bildirilmiştir (37-39). Apo B

konsantrasyonu KKH riskinin belirlenmesinde güçlü bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Ayrıca apolipoprotein ölçümleri çevresel faktörlerden daha az etkilenmekte ve bu nedenle bazı lipid parametrelerinden (örn. LDL-K) daha düşük CV_b değerine sahip olduğu için ölçüm güvenilirliği daha yüksek olabilmektedir (6).

Lipoprotein (a): Lp (a) nın lipid içeriği LDL ye benzer, ancak protein içeriği farklıdır: Protein olarak apo B 100 ve apo (a) içerir. Lp(a) konsantrasyonu yüksek olan kişiler daha yüksek KKH riskine sahiptirler (40). Kişiler arası lipoprotein (a) konsantrasyonu oldukça farklıdır, 1000 kat farklılık olabilir. Düşük konsantrasyon değerlerinde (< 60 mg/dL) CV_a yaklaşık %4, CV_b ortalama %26 (dağılım sınırları:3-51) ve CV_T %27 civarındadır. Yüksek konsantrasyonda (> 60 mg/dL) değişkenliğin azaldığı, (ortalama %10), ancak yine de dağılımın geniş olduğu (1-16) görülmüştür (6).

Tablo: Serum lipid ve apolipoproteinlerinin biyolojik, analitik ve hedeflenen analitik değişkenlikleri

Parametreler	% CV _b	% CV _a	Hedef % CV _a ¹
TK	6.1	-3	3
TG	22.6	< 5	5
HDL-K	7.4	9-38*	6
LDL-K	9.5	5	4
Apo A-I	6.2-7.1	3-6.7	-
Apo B	6.4-7.4	3-6.7	-
Lp (a)	26	4	-

¹Ulusal Kolesterol Eğitim Programı tarafından kabul edilen değerler.

*Laboratuvarlar arası % CV değeri.

III-SONUÇ

TK ölçümünde çoğu laboratuvarında hedef CV_a değerine yaklaşılmıştır. Ancak yine de hiperkolesterolemi tanısının konmasında ve LDL-K'ün hesaplanmasında kullanım için tek bir ölçümle yetinilmemesi, birden çok ölçümün sonucuna göre karar verilmesi gerekmektedir. TG ölçümünde total değişkenliğin büyük kısmı CV_b nedeniyledir. CV_b 'nin azaltılması için aralıklarla örnek alınması (genellikle 2 hafta) önerilmektedir. HDL-K düzeyinin saptanmasında ise total değişkenliği artıran CV_a 'dır.

Laboratuvarlar arası değişkenliğin %9-38 gibi çok büyük rakamlar olduğu göz önünde bulundurularak aynı laboratuvarında ve aynı yöntemle ölçüm yapılması değişkenliğin azaltılmasına katkı sağlayacaktır.

Ayrıca kişiden aralıklarla (2-3 hafta) örnek alınması ve bu örneklerin birden fazla sayıda çalışılması da gerekmektedir. LDL-K düzeyi Friedewald formülüyle hesaplanıyorsa TK, HDL-K ve TG ölçümlerinin iyileştirilmesi bu parametrenin doğru ve isabetli bir şekilde saptanmasına olanak sağlar. Apolipoproteinler ve Lp (a) düzeylerinin klinik kullanımı (tanı ve tedavinin izlenmesi) henüz yaygınlık kazanmamıştır.

Bu parametrelerin CV_b 'sine ilişkin az sayıda çalışma vardır, ancak yine de CV_b ve CV_a değerleri (özellikle apo A-I ve B için) LDL-K ve HDL-K den daha düşüktür.

KAYNAKLAR

1. Kaplan LA, Pesce AJ (eds). Clinical Chemistry theory, analysis, correlation. (In: Coronary artery disease and disorders of lipid metabolisms. Natio HK) Third Ed. Mosby-Year Book Inc. 1996. pp:642-681
2. Utermann G: The mysteries of lipoprotein (a). Science 246:904-910, 1989.
3. Scanu AM: Structural and functional polymorphism of lipoprotein (a): biological and clinical implications. Clin Chem. 41(1): 170-172, 1995.
4. Cooper GR, Myers GL, Smith SJ, Schlant RC: Blood lipid measurements. Variations and practical utility. J Am Med Assoc. 267:1652-1660, 1992.
5. Myers GL, Cooper GR, Sampson EJ: Traditional lipoprotein profile: clinical utility, performance requirement, and standardization. Atherosclerosis 108: S157-169, 1994.
6. Marcovina SM, Gaur VP, Albers JJ: Biological variability of cholesterol, triglyceride, low- and high-density lipoprotein cholesterol, lipoprotein (a), and apolipoproteins A-I and B. Clin Chem. 40(4):574-578, 1994.
7. Schectman G, Sasse E: Variability of lipid measurements: Relevance for the clinician. Clin Chem. 39(7):1495-1503, 1993.
8. Rivera-Coll A, Fuentes-Arderiu X, Diez-Noguera A: Circadian rhythmic variations in serum concentrations of clinically important lipids. Clin Chem. 40(8):1549-1553, 1994.
9. Choudhury N, Wall PML, Truswell AS: Effect of time between measurements on within-subject variability for total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in women. Clin Chem. 40(5):710-715, 1994.
10. Smith SJ, Cooper GR, Myers GL, Sampson EJ: Biological variability in the concentration of serum lipids: sources of variation among results from published studies and composite predicted values. Clin Chem. 39:1012-1022, 1993.
11. National Cholesterol Education Program Laboratory Standardization Panel: a report on current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States. Clin Chem. 34:193-201, 1988.
12. Bachorik PS: Measurement of triglycerides and lipoproteins. The fats of life. Lipids and Lipoprotein Division, AACC. Washington DC: American Association for Clinical Chemistry Publications, 1992, pp:9-10.
13. Myers GL, Schap D, Smith SJ, Cooper GR, Hartmann AE, Gilmore B: CAP-CDC collaborative study for evaluating reference materials for total cholesterol measurements. Arch Pathol Lab Med. 114:1199-1205, 1990.
14. Cooper GR, Smith SJ, Myers GL, Sampson EJ, Magid E: Estimating and minimizing effects of biologic sources of variation by relative range when measuring the mean of serum lipids and lipoproteins. Clin Chem. 40(2):227-232, 1992.
15. Miller M, Bachorik PS, Cloey TA: Normal variation of plasma lipoproteins: Postural effects on plasma concentrations of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. Clin Chem. 38(4):569-574, 1992.
16. Howes LG, Krum H, Lovis WJ: Plasma cholesterol levels are dependent on sympathetic activity. J Hypertens. 5 (Suppl):S361-S363, 1987.
17. Naughton MJ, Luepker KV, Strickland D: The accuracy of portable cholesterol analyzers in public screening programs. J Am Med Assoc. 263:1213-1217, 1990.

18. Weissfeld JL, Holloway JJ: Precision of blood cholesterol measurement and high blood cholesterol case-finding and treatment. *J Clin Epidemiol.* 45:971-984, 1992.
19. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *Arch Intern Med.* 148:36-39, 1988.
20. Second Expert Panel: Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation* 89: 1329-1445, 1994.
21. The Expert Panel. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Arch Intern Med.* 148:36-69, 1988.
22. Friedlander Y, Kark JD, Stein Y: Variability of plasma lipids and lipoproteins. The Jerusalem Lipid Research Clinic Study. *Clin Chem.* 31:1121-1126, 1985.
23. Mogadam M, Ahmed SW, Mensch AH, Godwin ID: Within-person fluctuations of serum cholesterol and lipoproteins. *Arch Intern Med.* 150:1645-1648, 1990.
24. Bookstein L, Gidding SS, Donovan M, Smith FA: Day-to-day variability of serum cholesterol, triglyceride, and high-density lipoprotein cholesterol levels. Impact on the assessment of risk according to the National Cholesterol Education Program guidelines. *Arch Intern Med.* 150:1653-1657, 1990.
25. Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P, Helo P: Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. *N Eng J Med.* 317:1237-1245, 1987.
26. Miller GJ, Miller NE: Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischaemic heart disease. *Lancet* i:16-19, 1975.
27. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB: Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. *J Am Med Assoc.* 256:2835-2836, 1986.
28. NIH Consensus Conference: triglyceride, high-density lipoprotein, and coronary heart disease. *JAMA.* 269:505-510, 1993.
29. Vega GL, Grundy SM: Comparison of lovastatin and gemfibrozil in normolipidemic patients with hypoalphalipoproteinemia. *J Am Med Assoc.* 262:3148-3153, 1989.
30. Schectman G, Hiatt J, Hartz A: Evaluation of the effectiveness of lipid-lowering therapy for treating hypercholesterolemia in veterans (bile acid sequestrants, niacin, psyllium, and lovastatin). *Am J Cardiol.* 71:759-765, 1993.
31. Warnick GR, Albers JJ, Teng-Leary E: HDL cholesterol: results of interlaboratory proficiency test. *Clin Chem.* 26:169-170, 1980.
32. Dirican M, Sarandöl E, Ulukaya E, Tokullugil AH: Yüksek dansiteli lipoprotein-kolesterol tayininde dekstran sülfat-magnezyum ve fosfotungstat-magnezyum presipitasyon tekniklerinin incelenmesi. *U Ü Tıp Fak Dergisi.* 1-2-3:41-45, 1995.
33. Tyroler HA: Review of lipid-lowering clinical trials in relation to observational epidemiologic studies. *Circulation* 76:515-522, 1987.
34. Schectman G, Patsches M, Sasse EA: Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem.* 42(5):732-737, 1996.
35. Kafonek SD, Derby CA, Bachorik PS: Biological variability of lipoproteins and apolipoproteins in patients referred to a lipid clinic. *Clin Chem.* 38:864-872, 1992.
36. Wäsenius A, Stugaard M, Otterstad JE, Froyshov D: Diurnal and monthly intra-individual variability

- of the concentration of lipids, lipoproteins and apoproteins. *Scand J Clin Lab Invest.*50: 635-642, 1990.
37. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, Mei JV, Henderson LO, Hannon WH: International Federation of Clinical Chemistry Standardization Project for measurements of apolipoproteins A-I and B. IV. comparability of apolipoprotein B values by use of international reference material. *Clin Chem.* 40(4): 586-592, 1994.
38. Maciejko JJ, Levinson SS, Markyvech L, Smith MP, Blevins RD: New assay of apolipoproteins A-I and B by rate nephelometry evaluated. *Clin Chem.* 33(11):2065-2069, 1987.
39. Abbey M, Clifton P, Kestin M, Belling B, Nestel P: Effect of fish oil on lipoproteins, lecithin:cholesterol acyltransferase, and lipid transfer protein activity in humans. *Arteriosclerosis*, 10:85-94, 1990.
40. Sandkamp M, Funke H, Schulte H, Köhler E, Assmann G. Lipoprotein (a) is an independent risk factor for myocardial infarction at a young age. *Clin Chem.* 36(1):20-23, 1990.