

İNSAN VE ÇEŞİTLİ HAYVAN TÜRLERİNİN SERUM LİPOPROTEİNLERİNİN VERTİKAL AGAROZ JEL ELEKTROFOREZ İLE SEPARASYONU*

Tülay İLERİ¹

Tayfun GÜLDÜR²

¹Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Burdur-TÜRKİYE

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Malatya-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.01.2001

Separation of Human and Various Animal Lipoproteins by Vertical Agarose Gel Electrophoresis

Summary

Lipoprotein electrophoresis is in common use in the clinical laboratory to aid the classification of the different forms of dyslipoproteinemias. In lipoprotein electrophoresis, the various support media such as paper, agarose, starch, polyacrylamide and cellulose acetate are utilized. Today, the majority of the electrophoresis is performed on ready made gels purchased from commercial companies, and for the most part, the most popular lipoprotein electrophoresis support medium at this time is agarose gel. The agarose system separates the pre-β lipoprotein fraction from the β lipoprotein with better resolution than other electrophoretic systems. Agarose gel electrophoresis has been described historically horizontal. In this study, firstly, horizontal electrophoresis system was adapted to vertical system, and secondly serum lipoprotein patterns [HDL (α), LDL (β) and VLDL (pre-β)] were determined in the normal cattle, sheep, goat, cat, dog, horse and chicken using the vertical agarose gel electrophoresis and compared with that in humans. In the vertical agarose gel electrophoresis of the human lipoproteins, the three classes of lipoproteins (β , pre- β and α lipoproteins) were detected. Agarose gel electrophoresis of the lipoproteins showed two major serum lipoprotein fractions in the animals studied, except the chicken, as β (+ pre- β) and α lipoproteins. In the animals, both pre- β and β lipoproteins migrated on agarose to approximately the same position. But in a dog, β , pre- β and α bands on electrophoresis were seen. In the agarose gel electrophoresis of the chicken serum, pre- β lipoprotein migrated only a short distance from the origin and α lipoprotein at the trailing edge of albumin. In the chickens (Broiler) β lipoprotein could not be determined. It was concluded that the vertical agarose gel electrophoresis might be used as a reference method in the evaluation of dyslipoproteinemias of human and various domestic animals.

Key Words: Human lipoproteins, animal lipoproteins, vertical agarose gel electrophoresis, lipoprotein separation

Özet

Lipoprotein elektroforezi çeşitli dislipoproteinemi'lerin sınıflandırılması amacıyla klinik laboratuvarlarda sıkça kullanılmaktadır. Lipoprotein elektroforezinde, kağıt, agaroz, nişasta, poliakrilamid ve selüloz asetat gibi çeşitli destek ortamları kullanılmaktadır. Günümüzde uygulanan elektroforezin büyük bir kısmı ticari şirketlerden satın alınan hazır jellerde yapılmakta ve genellikle en yaygın olarak kullanılan elektroforez destek materyalini agaroz jel teşkil etmektedir. Agaroz jel sistemi, β lipoproteinlerden pre- β lipoproteinleri diğer elektroforetik sistemlerden daha iyi ayırmaktadır. Agaroz jel elektroforezi geleneksel olarak yatay (horizontal) yapılmaktadır. Bu çalışmada, ilk olarak yatay sistem dikey (vertikal) sisteme uyarlandı. Daha sonra serum lipoprotein kompozisyonu [HDL (α), LDL (β) and VLDL (pre- β)] normal sığır, koyun, keçi, kedi, köpek, at ve tavukta dikey agaroz jel elektroforez kullanılarak belirlendi ve insandaki ile karşılaştırıldı. İnsan lipoproteinlerinin vertikal agaroz jel elektroforezinde, lipoproteinlerin üç sınıfı (β , pre- β ve α lipoproteinler) belirlendi. Tavuk hariç, çalışılan hayvanlarda lipoproteinlerin agaroz jel elektroforezi β (+ pre- β) ve α lipoproteinler olmak üzere iki temel serum lipoprotein fraksiyonu gösterdi. Bu hayvanlarda, hem β hem de pre- β lipoproteinler agaroz jelle yaklaşık aynı pozisyonda göç etti. Fakat bir köpekte β , pre- β ve α bantları elektroforezde gözlendi. Tavuk serum lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforezinde, pre- β , orijinden biraz uzaklıkta ve α lipoprotein albümünün sonunda göç etti. Tavuklarda (Broiler) β lipoprotein belirlenemedi. Sonuç

* Bu araştırma FÜNAF tarafından desteklenmiştir.

olarak, vertikal agaroz jel elektroforezin, insan ve çeşitli evcil hayvanların dislipoproteinemilerinin değerlendirilmesinde referans bir metot olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnsan lipoproteinleri, hayvan lipoproteinleri, dikey agaroz jel elektroforez, lipoprotein separasyonu

Giriş

Suda çözülmeyen yağların plazmada taşıınmaları lipoprotein olarak isimlendirilen suda çözünür makromoleküllerin şekillenmesi ile mümkün olmaktadır. Lipoproteinler, spesifik proteinler (apolipoproteinler) ve lipidler (colesterol,コレステロール,コレステリル esterleri, fosfolipidler ve triacylglyceroller) ile yer yer proteine bağlı bazı karbonhidratlardan ibarettir (19). Boyut, kimyasal kompozisyon ve dansitedeki farklılıklar lipoproteinleri ayırmayı mümkün kılmaktadır (13). Elektroforetik olarak insan lipoproteinleri 4 temel sınıfa ayrılır. Çok büyük partiküler olan şilomikronlar elektroforezde orijinde kalır ve normal insanlarda tok karnına alınan serum ya da plazmada görülür. VLDL pre-β, LDL β ve HDL α pozisyonda göç eder (16). Lipoproteinler, ultrasantrifügasyon, presipitasyon, elektroforez, kolon kromatografisi ve immunolojik prosedürler gibi tekniklerle serum yada plazmadan izole edilirler (9).

Lipoproteinlerin, insanlarda koroner arter hastalığı riski ve çeşitli dislipoproteinemiler ile ayrıca hem insanlarda hem de hayvanlarda lipid metabolizmasının değişik hastalıkları ile (ketozis, hepatik lipidozis, pankreatitis, diabetes mellitus v.b.) olan bağlantısı farklı lipoprotein sınıflarının miktar tayinlerini ve kompozisyonel analizlerini gerekli kılmaktadır. Bu analizler, bu tür lipid bağlantılı hastalıkların teşhisinde büyük öneme sahiptir (9,15). Lipoprotein sınıflarının bu amaçla izolasyonu için geliştirilen ve sık kullanılan metodlardan biri de elektroforezdir. Lipoproteinlerin elektroforezinde, kağıt, agaroz, nişasta, poliakrilamid ve sellüloz asetat gibi çeşitli destek ortamları kullanılmaktadır. Bu destek ortamlardan en çok kullanılan ve kullanımı kolay olan agaroz jeldir (16). Agaroz jel elektroforezi ile diğer elektroforetik sistemlerden daha iyi bir rezolüsyon sağlanarak pre-β lipoprotein, β lipoproteinden daha iyi ayırt edilir.

Vertikal SDS-PAGE sistemi protein analizlerinde bir çok laboratuvara sıkça yer almaktır ve bununla ilgili teçhizat yaygın olarak bulunmaktadır. Agaroz jel elektroforezi, lipoprotein ayırmı için kullanılmakta ve geleneksel şekilde horizontal olarak uygulanmaktadır. Vertikal SDS-PAGE sisteminde aynı zamanda agaroz jel elektroforezin yapılması ile tek bir düzenekte iki farklı elektroforezinin gerçekleştirilemesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

İnsan kanı antecubital vena'dan, kedi ve köpek hariç tüm türlerde (koyun, keçi, sığır, at ve tavuk) ise vena jugularis'den alındı. Kedi kanı eter anestezisi altında kalpten alınırken, köpek kanı vena radialis (vena cephalica)'den alındı. Kan örnekleri yaklaşık 30 dak. pihtlaşmaya bırakıldı. Takiben, 2500 rpm de 15 dak. oda sisliğinde santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve aynı gün içinde elektroforez ile ayırım gerçekleştirildi.

Lipoproteinlerin agaroz jel elektroforezi Hoefer jel elektroforez ünitesi (Hoefer SE 250 Hoefer Scientific Instruments, A.B.D.) kullanılarak gerçekleştirildi. Aynı anda 2 jel hazırlamaya müsait jel döküm ünitesi ~ 2mm kalınlığında 2 buzlu cam (10 x 8 cm) ile hazırlandı. Ünite yaklaşık 30 dak. 45-50 °C lik etüvde bekletildi. Konsantre 75 ml'lik stok tampon (0.06 M tris, 0.01 M barbital, 0.05M sodyum barbital, 0.0015M sodyum azid) 1000ml'ye distile su ile tamamlandı. Bu tampon jel hazırlamada ve elektrot tamponu olarak kullanıldı (20). %0.8'lik, 1.5mm kalınlığındaki 2 jel için 0.2g agaroz 25 ml barbital tamponda kaynatılarak eritildi. Eritilen agaroz 45-50 °C'ye soğutularak bir enjektör yardımıyla jel döküm ünitesine döküldü ve 10 dişli 1.5 mm kalınlığında taraklar yerleştirildi. Agaroz çözeltisinin jel haline gelmesi için 2 saat + 4 °C de bekletildi. İnsan serumundan kuyucuklara direkt olarak 9µL ve diğer hayvan türlerinin serumlarından 15 µL ilave edildi. Jeller 15 mA/jel de (sabit amper) ~ 36 V'da 1 saat 30 dak. elektroforez işlemeye tabi tutuldu. Elektroforez sonrası jeller, etanol / asetik asit / su 60:10:30 (v/v) karışımında 10 dak. fikze edildi. Fikzasyon sonrası 30 dak. 60 °C de kurutuldu. Kuruyan jeller Fat Red 7B ile boyandı (2,17). Boyama sonrası jeller distile su / metanol (4 : 1, v/v) karışımı kullanılarak fazla boyadan arındırıldı (12). Jeller bu karışımında saklandı ve fotoğraflandı.

Bulgular

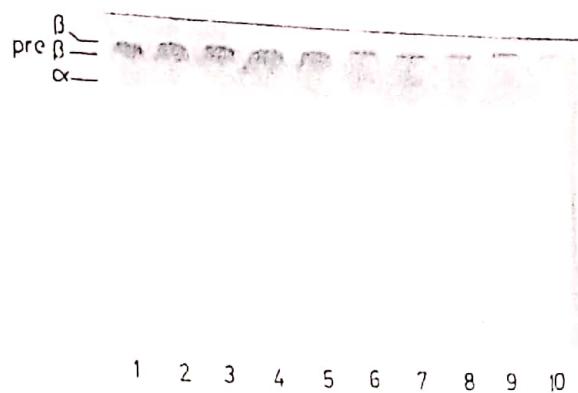
Geleneksel olarak horizontal yapılan agaroz jel elektroforezi vertikal slab jel sisteme uyarlandı. Bu amaçla, elektroforezde optimum bir ayırım elde edilebilmesi için, jel konsantrasyonu ve kalınlığı, jele uygulanan akım ve elektroforez süresinin tespiti amacıyla çeşitli denemeler yapıldı.

*1. Geleneksel Horizontal Jel Elektroforezin
Vertikal Slab Jel Elektroforez Sistemine
Uyarlanması:* Bu amaçla, Hoefer SE 250 Vertikal
Slab Jel düzeneğinin jel döküm ünitesinde kullanılan
(10x8 cm) 1mm kalınlığındaki biri düz, diğeri buzlu
(10x8 cm) 2mm kalınlığındaki
cam iki plaka yerine, (10x8 cm) 2mm kalınlığındaki
iki buzlu cam plaka kullanıldı. Böylece ısıtılmış
ağaroz jelin akışkan olması ve düz cam yüzeye
poliakrilamid kadar iyi tutunamaması nedeniyle,
elektroforez işlemi esnasında üst tampon tankından
alt tanka doğru jel ile cam plaka arasından tampon
sızma problemi ortadan kaldırıldı. Ayrıca sıcak jel
dökümü ve soğutulması sırasında cam plakaların
çatlaması da önlandı.

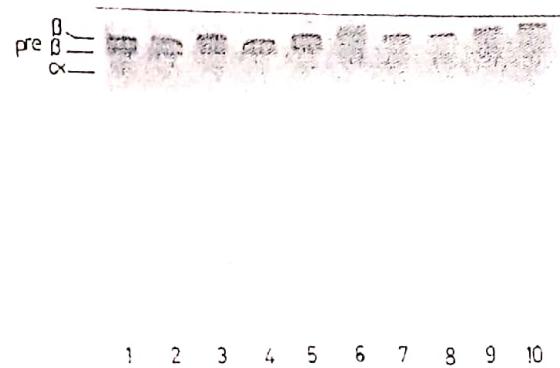
*2. Vertikal Slab Jel Elektroforez ile Lipoprotein
Ayırımı:* Jellere uygulanan akım ve agaroz
konsantrasyonları değiştirilerek lipoprotein bant
rezolüsyonlarının en iyi olduğu şartlar belirlendi.
Daha ince jellerin çok kırılgan olması sebebiyle 1.5
mm kalınlığındaki jeller kullanıldı.

1. 1.5 mm kalınlığındaki jellere 12, 15, 20 ve 25
mA akım uygulandı. Elektroforez süresi, bantların
göçleri takip edilerek 1 ile 2 saat arasındaki sürelerde
denendi. 15 mA/jel sabit amper modunda (~ 40 V) 1
saat 30 dak. süreyle uygulanan elektroforez işleminin
iyi bir ayırım sağladığını görüldü.

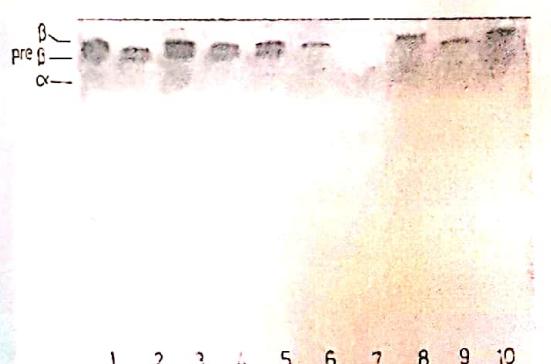
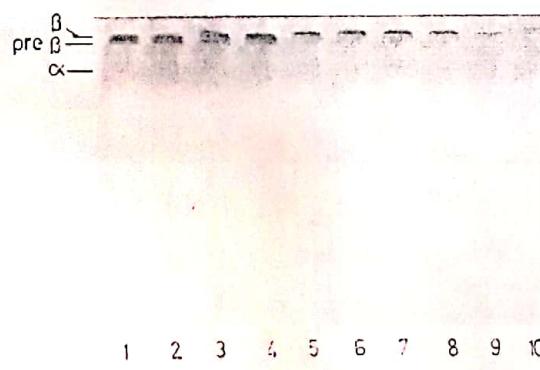
2. Jel hazırlanmasında %0.5-1 agaroz
konsantrasyonları denendi. %0.5'lik jel çok kırılgan
olduğundan elektroforez işlemleri sadece %0.6,
%0.7, %0.8, %0.9 ve %1'lik jellere uygulandı (Şekil
1,2,3,4,5). İnsan serumundan jel üzerindeki numune
kuyucuklarına 9 µl, çeşitli hayvan serum
lipoproteinlerinin ayırımı için ise 15 µl ilave edildi.
Serum lipoprotein fraksiyonlarının ayırımı
gerçekleştirildi.



Şekil 2. İnsan Serum Lipoproteinlerinin %0.7'lük Agaroz Jel Elektroforetogramı
1,2,3,4,5 : İnsan serumu 6,7,8,9,10 : Koyun serumu

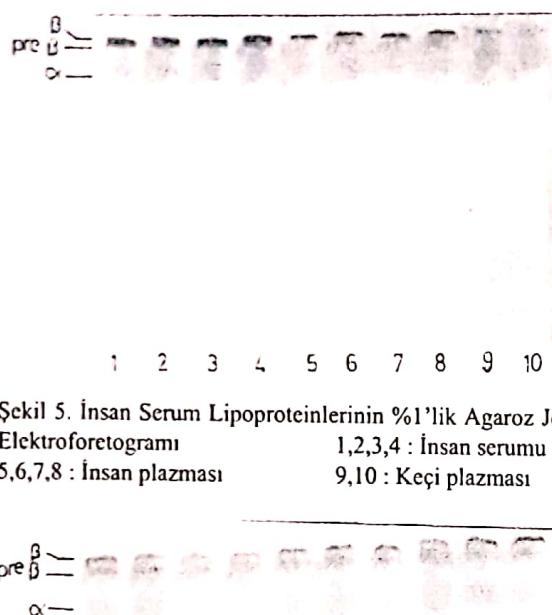


Şekil 3. İnsan Serum Lipoproteinlerinin %0.8'lük Agaroz Jel Elektroforetogramı
1,2,3,4,5 : İnsan serumu 6,7,8,9,10 : Koyun serumu



Şekil 1. İnsan Serum Lipoproteinlerinin %0.6'luk Agaroz Jel Elektroforetogramı
1,2,3,4,5 : İnsan serumu 6,8,9,10 : Koyun serumu

Şekil 4. İnsan Serum Lipoproteinlerinin % 0.9'luk Agaroz Jel Elektroforetogramı
1,2,3,4 : İnsan serumu 5,6,7,8 : İnsan plazması
9,10 : Keçi plazması



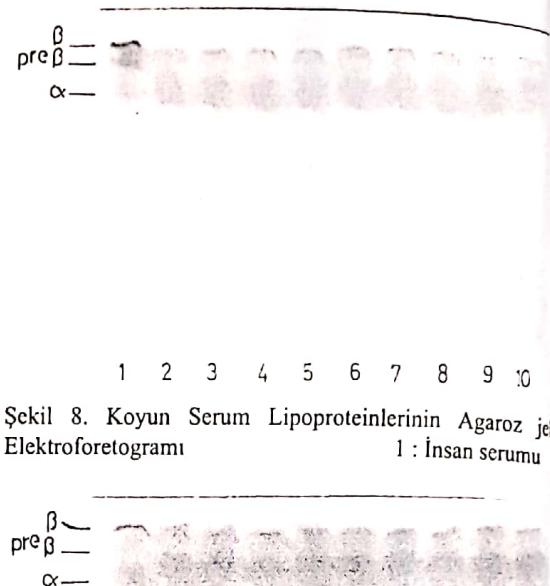
Şekil 5. İnsan Serum Lipoproteinlerinin %1'lik Agaroz Jel Elektroforetogramı
1,2,3,4 : İnsan serumu
5,6,7,8 : İnsan plazması 9,10 : Keçi plazması

Şekil 6. İnsan Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı (% 0.8)

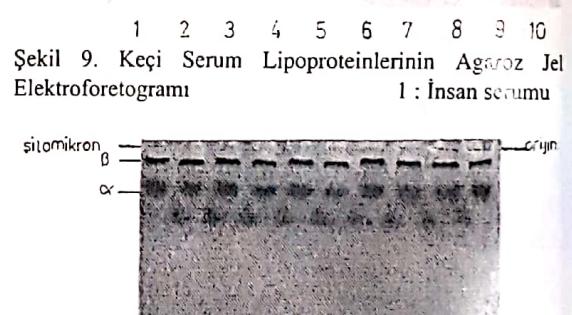
Yapılan tüm adaptasyon çalışmaları sonunda, %0.8'lik, 1.5 mm kalınlığındaki jelde 15 mA de 1 saat 30 dak. süreyle tris-barbital pH 8.6 tampon ile en iyi elektroforetik separasyonun elde edildiği tespit edildi (Şekil 6). İnsan serum lipoproteinlerinin ayırmı için adapte edilen agaroz jel elektroforez şartlarında, sırasıyla tüm hayvan türlerinin (sığır, koyun, keçi, kedi, köpek, at, tavuk) serum lipoproteinlerinin ayırmaları da gerçekleştirildi (Şekil 7,8,9,10,11,12,13).



Şekil 7. Sığır Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı



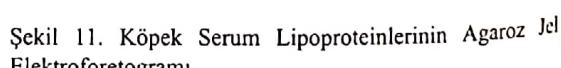
Şekil 8. Koyun Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı
1 : İnsan serumu

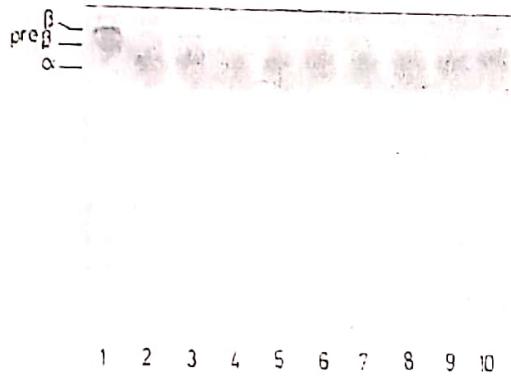


Şekil 9. Keçi Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı
1 : İnsan serumu



Şekil 10. Kedi Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı





Şekil 12. At Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı

1: İnsan serumu



Şekil 13. Tavuk Serum Lipoproteinlerinin Agaroz Jel Elektroforetogramı

Tartışma

Agaroz jel elektroforez ile pre- β lipoproteinlerin azalan agaroz konsantrasyonuna bağlı olarak orjinden daha ileri göç ettiği ve β /pre- β ayırımının daha iyi olduğu ileri sürülmüştür (18). Yapılan denemelerde de bu açıkça görüldü. Artan jel konsantrasyonuna bağlı olarak β /pre- β bantlarının birbirine çok yakınlığı hatta ayırım yapılamadığı gözlandı (Şekil 4, 5). Ayrıca çok düşük konsantrasyonlu jellerin de kırılgan olmasından dolayı %0.8'lik jeller tercih edildi ve iyi bir separasyon sağlandı (Şekil 6). Buna rağmen bazen aynı şartlar altında insan serum β /pre- β ayımı tam olarak yapılamadı. Karşılaştığımız bu problem Contois (7) tarafından da düşündürücü bulunmuştur. Açı ve tok serumlar ile EDTA'lı plazma üzerinde çalışılmış, yarı tok serumlarda daha iyi bir rezolüsyon gözlenmiştir. Bu da açılıkta artan serbest yağ asidi konsantrasyonuna bağlı olarak lipoprotein polaritesinin değişmesine bağlanabilir. EDTA'lı plazmadaki ayırım seruma göre daha zayıf bulunmuştur (Şekil 4,5). Buna rağmen, β /pre- β rezolüsyonunun bazen değişken olmasının sebepleri araştırılmaya açiktır. Sığır serum lipoproteinlerini Ferreri ve Gleockler (8) poliakrilamid jel

elektroforezi (PAGE), ince tabaka agaroz jel elektroforezi ve kağıt elektroforezi ile ayırma tabi tutmuşlardır. Agaroz jel elektroforezde şilomikronları tespit edememişlerdir. İnsan serum lipoproteinleri agaroz ve PAGE ile 3 bant (β , pre- β ve α) sergilerken, sığır serum lipoproteinleri PAGE, kağıt elektroforez ve agaroz jel elektroforez ile β ve α olarak 2 bant halinde ayırt edilmiştir. Ayrıca insan serum lipoproteinlerinin elektroforez ile iyi bir şekilde ayırt edilmesine rağmen, sığır serumunda kullanılan elektroforez yöntemleriyle iyi bir ayırım sağlanamadığı vurgulanmıştır. Bu da sığır serum lipoproteinlerinin zayıf rezolüsyonuna bağlanmıştır. Aynı şekilde 1989'da Naqvi ve ark. (17) koynun lipoproteinlerini agaroz jel elektroforez ile ayırt etmişler ve α , β olarak 2 bant belirlemiştir. Mevcut çalışmada da yukarıdaki çalışmalar ile aynı paralelde sığır, koynun ve keçi lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforez ile ayırmalarında β ve α olmak üzere 2 bant tespit edildi. Fakat Vitic ve Stevanoic (21) sığır, koynun ve keçi lipoproteinlerinin kağıt ve agaroz jel elektroforezinde pre- β , β ve α olarak insandaki gibi 3 fraksiyon tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada, sığır ve keçilerde insanlardaki β lipoprotein fraksiyonuna karşılık gelen lipoprotein bandının çok az olduğu hatta bulunmadığı ileri sürülmüştür. Çalışmalar arasındaki bu farklılığın nedeni olarak, ruminant lipoproteinlerinde mevcut pre- β ve β bantlarının agaroz jel elektroforezde aynı yere göç etmesine bağlı olarak hassas bir ayırım sağlanamaması (8) ve pre- β lipoproteinlerin serum konsantrasyonunun düşük olması gösterilebilir. Mevcut çalışmada, at serum lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforezinde β ve α bantları gözleendi. Pre- β lipoprotein ve şilomikronlar tespit edilemedi. Bir gecelik açılıktan sonra kan alınan midillilerde VLDL'in mevcut olmadığı (4,14) ve sadecce olayan atlarda şilomikronların varlığı bildirilmiştir (14). Mevcut farklılık beslenme şartları ve açlık süresine bağlı olabileceği gibi VLDL ve LDL fraksiyonunun birlikte β bölgesine göç etmesine de bağlanabilir. Bauer (5) kedi lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforezinde 3 bant (β , pre- β ve α) tespit etmiştir. Bir başka çalışmada (11) normal kedilerin elektroforetik separasyonunda insandan daha düşük konsantrasyonda α ve β lipoprotein içerdiği tespit edilmiştir. 4 kediden ayrı zamanlarda eter anestezisi altında alınan serumların hepsi de süt manzaralı idi; yani triaçigliseroolden zengindi. Bu sebepten dolayı kedi lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforezinde orijinde boyalı bir band olarak şilomikronlar göze çarpmaktadır. Kediler sokak kedileri olduklarından, beslenme şartları ve sağlık durumları kontrol altında değildi. Bu nedenle kedilerin kan almışından kısa süre önce beslendikleri

düşünülebilir. Mevcut çalışmada tok durumda β /pre- β ayırmının insanda çok iyi yapılamadığı gözlendi. Kedilerde olduğu belirlenen pre- β bandının görülmeyişinin sebebi olarak da bu durum düşünülebilir. Normal köpek serum lipoprotein elektroforezinde β band LDL'i ve α band HDL2'yi temsil eder. α bölgede çok yavaş göç eden bir band HDL1'dir. Deneysel olarak normal köpeklerin 1/3'ünde görülmeyen, fakat HDL'den daha yavaş göç eden bir pre- β bandı da bildirilmiştir (11). Bauer (5) köpeklerde VLDL'in ancak konsantr edildiğinde agaroz jel elektroforezde pre- β mobiliteye sahip olduğunu tespit etmiştir. Aksi takdirde VLDL'in sadece nadiren tipik serum örneklerinde görüldüğü ve sıkılıkla β bant içinde saklı olarak β lipoproteinlerle göç ettiği bildirilmiştir. Barrie ve ark (3) da Bauer (5) gibi agaroz jel elektroforezde β ve α bandı tespit etmişler, pre- β bandını sadece konsantr fraksiyonlarda gözlemlemiştir. Bunun yanında normal köpek lipoproteinlerinin agaroz jel elektroforezde β , pre- β , α_2 ve α_1 bandı sergilediği yönünde çalışmalar da mevcuttur (6,19,22). Köpek serum lipoproteinlerinin yapılan agaroz jel elektroforezinde, Barrie ve ark.(3)'ın bildirdiği ile paralel olarak 4 farklı köpektен alınan serumların elektroforezinde sadece 1 köpekte β , pre- β ve α bandı görüldendi. Diğerlerinde sadece β ve α bandı tespit edildi. Çalışmada, Broiler türü besi tavuklarının serum lipoproteinlerine bakıldığımda 2 lipoprotein bandı görüldü. Tavuk serum lipoproteinlerinin agaroz jeldeki mobilitelerinin insan ve diğer hayvan türlerinden çok farklı olduğu belirlendi. Bu da kuşlardaki lipid transport sisteminin

memelilerden farklı olmasına bağlıdır. Memelilerde, ekzojen yağ lenf aracılığıyla şilomikronlarda taşınır. Oysa tavuklarda şilomikronlar şekillenmez ve ekzojen yağ portal ven aracılığıyla büyük VLDL yada portomikronlar şeklinde taşınır (10). Tavuk serum HDL'inin %0.5'lük agaroz jelde albümini izleyen sonda, VLDL'in orijinden hemen sonra kısa bir mesafede göç ettiği ve LDL'in daha ilerde yer aldığı bildirilmiştir. Mevcut bilgilerin işliğinde agaroz jel elektroforez ile separe edilen 2 banttan birinin göç yerine göre pre- β (VLDL) ve diğerinin de α (HDL) olduğu belirlendi. Fakat β (LDL) fraksiyonu tespit edilemedi. Yumurtacı Leghorn tavuklarda VLDL konsantrasyon artışına bağlı olarak düşük de olsa bir LDL'in varlığı yapılan diğer çalışmalar da tespit edilmiştir (1,6). Oysa mevcut çalışmada 6 haftalık Broiler piliçlerin serumları kullanıldı. Bu durumda azalan VLDL konsantrasyonuna bağlı olarak VLDL'den köken alan LDL konsantrasyonunun da azalması beklenir.

Hayvan ve insan serum lipoproteinlerinin vertikal agaroz jel elektroforezi ile ortaya konan kompozisyonları daha önce yapılan horizontal agaroz jel elektroforez sonuçları ile uyum içindedir. Böylece mevcut çalışmanın rehberliğinde çoğu laboratuvara bulunan vertikal SDS-PAGE düzeneği ile ayrı bir teçhizat alınmadan agaroz jel elektroforez de yapılabilir. Nihayetinde, insan ve bazı evcil hayvanların çeşitli dislipoproteinlerinin ve lipoproteinlerle bağlantılı hastalıklarının teşhisinde serum lipoproteinlerinin elektroforetik ayırmadan istifade edilebilir.

Kaynaklar

- Annison EF. Lipid metabolism. In: Freeman BM Editor. *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*. London. Academic Press 1983; 165-173.
- Bahler RC, Opplt JJ, Waggoner DM. Lipoproteins in patients with proved coronary artery disease: Qualitative and quantitative changes in agarose gel electrophoretic patterns. *Circulation* 1980; 62(6): 1212-1220.
- Barrie J, Nash AS, Watson TDG. Quantitative analysis of canine plasma lipoproteins. *Journal of Small Animal Practice* 1993; 34: 226-234.
- Bauer JE. Plasma lipids and lipoproteins of fasted ponies. *Am J Vet Res* 1983; 44(3): 379-384.
- Bauer JE. Diet-induced alterations of lipoprotein metabolism. *JAVMA* 1992; 201(11): 1691-1694.
- Chapman MJ. Animal lipoproteins: Chemistry, structure, and comparative aspects. *J Lipid Res* 1980; 21: 789-853.
- Contois JH, Gilmor RG, Moore RE, Contois LR, Macer JL, Wu AHB. Quantitative determination of cholesterol in lipoprotein fractions by electrophoresis. *Clin Chim Acta* 1999; 282: 1-14.
- Ferreri LF and Gleockler DH. Electrophoretic characterisation of bovine lipoprotein subfractions isolated by agarose gel chromatograph. *J Dairy Sci* 1979; 62: 1577-1582.
- Griel LC and McCarty RD. Blood serum lipoproteins: A review. *J Dairy Sci* 1969; 52(8): 1233-1243.
- Hillyard LA, White, HM, Pangburn SA. Characterisation of apolipoproteins in chicken serum and egg yolk. *Biochemistry* 1972; 11(4): 511-518.
- Jones BR, Hancock WS, Campbell CH. Occurrence of idiopathic, familial hyperchylomicronemia in a cat. *Vet Rec* 1983; 112: 543-547.
- Karcher RE and Nuttall KL. Lipoprotein agarose gel electrophoresis. In: Burtis, CA and Ashwood, ER,

- Editors. Tietz textbook of clinical chemistry. Pennsylvania. WB Saunders Company, 1999; 154-155.
13. Kris-Etherton PM and Etherton TD. The role of lipoproteins in lipid metabolism of meat animals. *J Anim Sci* 1982; 55(4): 804-817.
 14. Milne EM, Doxey DL, Gilmour JS. Serum lipids and lipoproteins in equine colic and grass sickness. *Res Vet Sci* 1990; 48: 170-174.
 15. Naito, HK. High-Density lipoprotein (HDL) cholesterol. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Editors. Clinical chemistry theory, analysis and correlation. 2nd ed. USA. The CV Mosby Company, 1989; 983-991.
 16. Naito HK. Lipoprotein electrophoresis. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Editors. Clinical chemistry theory, analysis and correlation. 2nd ed. USA. The CV Mosby Company, 1989; 1195-1207.
 17. Naqvi SMK, Maru A, Hooda OK. Influence of fasting on the ratio of β lipoproteins in sheep. *Indian Vet J* 1989; 66: 369-370.
 18. Noble RP. Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel. *J Lipid Res* 1968; 9: 693-700.
 19. Rogers WA., Donovan EF, Kociba GJ. Lipids and lipoproteins in normal dogs and in dogs with secondary hyperlipoproteinemia. *JAVMA* 1975; 166(11): 1092-1100.
 20. Sparks DL and Phillips, MC. Quantitative measurement of lipoprotein surface charge by agarose gel electrophoresis. *J Lipid Res* 1992; 33: 123-130.
 21. Vitic J, Stevanovic J. Comparative studies of the serum lipoproteins and lipid in some domestic, laboratory and wild animals. *Comp Biochem Physiol* 1993; 106B(1): 223-229.
 22. Watson P, Simpson KW, Bedford GC. Hypercholesterolemia in briards in the United Kingdom. *Res Vet Sci* 1993; 54: 80-85.