

Fortschritte in der Analyse der Plasmalipoproteine

Eine neue Möglichkeit zur Differentialdiagnose des Ikterus

DIETRICH SEIDEL, PETAR ALAUPOVIC und ROBERT H. FURMAN

Medizinische Universitätsklinik Heidelberg und Cardiovascular Section, Oklahoma Medical Research Foundation, Oklahoma-City, Okla., USA

Einleitung

Lange Zeit stand die Lipidanalyse des Plasmas im Mittelpunkt der Diagnostik bei den Hyperlipidämien. Hierbei wurden in erster Linie Bestimmungen der Gesamtlipide, des Cholesterins, der Triglyceride und der Phospholipide vorgenommen. Die beschränkte Aussagekraft solcher Untersuchungen wird mit der wachsenden Kenntnis des Fettstoffwechsels und seiner Störungen deutlich. So haben die Ergebnisse der Lipidforschung der letzten Jahre gezeigt, daß den Plasmalipoproteinen eine zentrale Stellung bei der Differenzierung und in der Suche nach den pathophysiologischen Zusammenhängen der Hyperlipidämien zukommt. Das gilt gleichermaßen für die primären (oder familiären) und die sekundären Hyperlipidämien. Sie alle gehen mit Konzentrationsänderungen und/oder Verschiebungen in der Protein-Lipid-Zusammensetzung der Plasmalipoproteinfraktionen einher und sollten daher auch nur als Hyperlipoproteinämien bezeichnet werden.

Die Klassifizierung und Fraktionierung der Plasmalipoproteine nach ihren physikalisch-chemischen, chemischen und immunologischen Eigenschaften hat zu wertvollen diagnostischen Möglichkeiten bei den verschiedenen Hyperlipoproteinämien geführt. Hierbei zeigt sich in wachsendem Maße die Bedeutung der Proteinanteile der Plasmalipoproteine (Alaupovic [1]).

In dieser Übersicht soll von einer neuen diagnostischen Möglichkeit bei einer sekundären Hyperlipoproteinämie, dem Verschlussikterus, berichtet werden. Zusammenfassende Darstellungen einer Klassifizierung der primären Hyperlipoproteinämien finden sich bei Fredrickson et al. [2] und Greten [3].

Klassifizierung der Plasmalipoproteine

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Plasmalipoproteine sind bestimmt durch ihre Protein-Lipid-Zusammensetzung, wobei ihre Dichte vorwiegend von dem Gehalt an Neutralfetten (Triglyceride und Cholesterinester) abhängig ist (vgl. Tabelle 1). Die Dichte und die elektrophoretische Mobilität der Plasmalipoproteine sind die Grundlage zweier üblicher Einteilungssysteme (vgl. Tabelle 2). Unter Verwendung der Ultrazentrifuge lassen sich die Plasmalipoproteine in prinzipiell 3 Gruppen fraktionieren:

1. VLDL (very low density lipoproteins, die Chylomikronen eingeschlossen), $d < 1,006$ g/ml, $S_f > 20$;
2. LDL (low density lipoproteins), $d 1,006—1,063$ g/ml, $S_f = 0—20$;
3. HDL (high density lipoproteins), $d 1,063—1,210$ g/ml.

Die elektrophoretische Trennung der Plasmalipoproteine erlaubt eine Aufteilung in mindestens 4 mögliche Fraktionen.

1. Die nicht wandernden Chylomikronen,
2. die mit den β -Globulinen wandernden β -Lipoproteine,
3. die Prä- β -Lipoproteine und
4. die α -Lipoproteine mit einer Mobilität der α_1 -Globuline.

Sowohl die polydispersen Dichteklassen wie die elektrophoretisch trennbaren Fraktionen stellen heterogene Gruppen hinsichtlich ihrer Proteinanteile, der sog. Apo-Lipoproteine dar (vgl. Tabelle 2). Chemische und immunologische Untersuchungsmethoden haben das Vorkommen von wenigstens 3 voneinander verschiedenen Apo-Lipoproteinen (Apo A, Apo B und Apo C) in Plasma des Menschen gezeigt. Hieraus ergibt sich die dritte Klassifizierungsmöglichkeit der Plasmalipoproteine. Eine Einordnung in Familien mit gleichen Apo-Lipoproteinen. Zu unterscheiden sind:

Tabelle 1. Prozentuale Protein-Lipid-Zusammensetzung der Plasmalipoproteine stoffwechselgesunder Personen (Bragdon [4])

Dichteklasse	Colesterin-ester	Freies Cholesterin	Phospholipide	Triglyceride	Protein
VLDL ($d < 1,006$)	16,2	6,0	17,9	51,8	7,1
LDL ($d 1,006—1,063$)	39,4	7,5	23,1	9,3	20,7
HDL ($d 1,063—1,21$)	18,5	2,3	26,9	4,6	47,7

Tabelle 2. Einteilungssysteme der Plasmalipoproteine

Elektrophorese	Dichteklassen	Apo-Lipoproteine
+	Albumin $d > 1,21$	Albumin
	α -LP $d 1,063—1,21$	HDL A, B
	Prä- β -LP $S_f 20—400$ $d < 1,006$	VLDL A, B, C
	β -LP $S_f 0—20$ $d 1,006—1,063$	LDL B, A
Auftragstelle	Chylomikronen $S_f > 400$ $d < 1,006$	VLDL A, B, C
—		

1. LP-A (Lipoprotein-A) mit Apo A als Proteinanteil,
2. LP-B (Lipoprotein-B) mit Apo B und
3. LP-C (Lipoprotein-C) mit Apo C als Apo-Lipoprotein (vgl. Tabelle 2).

Neueste Untersuchungen von Shore [6, 7] haben ältere Befunde gesichert, daß Apo A aus zwei nicht identischen Peptiden besteht. Ebenso gibt es Hinweise dafür, daß Apo B (Lee [7]) und auch Apo C (Gustafson et al. [8]; McConathy und Alaupovic [9]; Brown et al. [10]) aus nicht identischen Peptiden bestehen.

Da auch von dem Albumin bekannt ist, daß es freie Fettsäuren und Phospholipide (besonders Lysolecithin) zu binden vermag, besteht kein zwingender Grund, es nicht auch als Plasmalipoprotein zu bezeichnen.

Gerade dieser letztgenannten Einteilung der Plasmalipoproteine in Fraktionen mit gleichen Apo-Lipoproteinen kommt in immer stärkerem Maße Bedeutung zu (Alaupovic [1]). Ihre Brauchbarkeit zeigt sich u. a. in den zu besprechenden Befunden bei Patienten mit Verschlussikterus.

Plasmalipide bei Patienten mit Ikterus

Seit langem ist bekannt, daß Leberstörungen häufig mit Veränderungen der Plasmalipide einhergehen. Flint [11] beschrieb 1862 als erster eine Abweichung der Cholesterinwerte

im Blut bei Patienten mit Verschlußikterus. Seither wurden zahlreiche Untersuchungen von mehreren Arbeitsgruppen angestellt, um die Verschiebungen der einzelnen Plasmalipide bei Patienten mit Leberstörungen zu charakterisieren [12–23]. Am deutlichsten, wenn auch nicht obligat, sind die Plasmalipidänderungen bei Patienten mit intra- oder extrahepatischem Verschlußikterus. Sie sollen im folgenden kurz zusammengefaßt werden.

Eine Erhöhung des Gesamtcholesterinspiegels wird bedingt durch die Erhöhung des freien Cholesterins. Dies hat ein Anwachsen des Verhältnisses freies Cholesterin/Gesamtcholesterin zur Folge. Daß es beim Verschlußikterus zu einem erhöhten Cholesteringehalt in der Leber kommt, ist heute unbestritten. Die Ursache dieses Anstiegs hingegen ist nicht völlig abgeklärt. Fredrickson et al. [24] beschrieben eine gesteigerte Cholesterinsynthese, während Behr et al. [25], Siperstein und Fagan [26] von einem Absinken der Synthese- und Abbaurate des Cholesterins berichten, wenn die Gallensäurekonzentration in der Leber ansteigt.

Die Plasmatriglyceridwerte zeigen keine sichere Abweichung von der Norm.

Hingegen kommt es sehr häufig zu einer Steigerung der Phospholipide mit einem Absinken des Verhältnisses Gesamtcholesterin/Phospholipide, was ein stärkeres Ansteigen der Phospholipide gegenüber dem Cholesterin anzeigt. Zugleich ändert sich die Zusammensetzung der Plasmaphospholipide, indem das Lecithin relativ und absolut am stärksten zunimmt (Philipps [23]). Die Phospholipide (speziell das Lecithin) stellen unter normalen Verhältnissen einen Hauptbestandteil der Galle dar und werden wahrscheinlich beim Gallengangsverschluß retiniert (Borgström [27]; Isaksson [28]; Philipps [29]; Polonovski [30]). Balfour [31] beschreibt darüber hinaus eine gesteigerte Synthese des Lecithins in der Leber beim Verschlußikterus. Ahrens [32] diskutierte als erster, daß speziell die Phospholipidhöhung im Plasma verantwortlich ist für die Hyperlipoproteinämie. Es wird vermutet, daß die Phospholipide die Stabilität der Plasmalipoproteinkomplexe und dadurch die Anlagerung von Cholesterin erhöhen. Diese Auffassung wurde auch von anderen Gruppen geteilt (Friedman [33]; Jackson [34]).

Plasmalipoproteine bei Patienten mit Verschlußikterus

Kunkel und Ahrens [35, 36] fanden eine Korrelation zwischen dem Ansteigen der Gesamtlipide und der Konzentration der β -Globulinbande im Elektropherogramm. Gofman et al. [37–39] beschrieben als erste eine Abweichung der Lipoproteinverteilung bei Patienten mit Verschlußikterus. Es zeigte sich bei Verwendung der Ultrazentrifuge eine deutliche Erhöhung der LDL-Fraktion. Furman et al. [49], Havel [41], Lindgren [42] und Eder [22] zeigten, daß das Ansteigen der Lipoproteinkonzentration in der LDL-Fraktion mit einem Absinken der Lipoproteinkonzentration in der HDL-Fraktion einhergeht. Furman et al. [43] fanden eine Korrelation zwischen dem Abfall der Plasmacholesterinesterkonzentration und dem Absinken der Lipoproteinkonzentration in der HDL-Fraktion. Eder [22] fand bei Verwendung der Cohn-Fraktionierung (Cohn et al. [44]) eine erhöhte Lipoproteinkonzentration in der Fraktion IV–VI. Russ [45] zeigte ein Lipoprotein in der Fraktion VI, in der sich unter normalen Bedingungen keine Lipoproteine finden. In neueren Untersuchungen beschreibt Switzer [46] ein Lipoprotein in der LDL-Fraktion, das im Ouchterlony-Test nicht mit Anti- β -LP-Serum immunologisch reagiert und Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung zu den bekannten Apo-Lipoproteinen der HDL- und LDL-Fraktion zeigt. Burstein und Caroli [47, 48] konnten ein Lipoprotein zeigen, das sich mit den Methoden der LDL-Präzipitation fällen ließ, aber nicht mit Anti- β -LP-Serum reagierte. Sie postulieren ein ungewöhnliches LP-A in der LDL-Fraktion dieser Patienten. DeLalla [49] beschrieb ein LP-A in der LDL-Fraktion, ohne jedoch quantitative Angaben zu machen. Fredrickson et al. [2] erwähnten das Auftreten von LP-A in der LDL-Fraktion bei Patienten mit Verschlußikterus und vermuten eine Verschiebung des LP-A aus der HDL- in die LDL-Fraktion. Es werden jedoch von den Autoren keine experimentellen Daten gegeben, die eine solche Verschiebung anzeigen.

Mit Hilfe einer neuen Isolierungstechnik, die aus einer Kombination von Ultrazentrifugation, Heparinpräzipitation und Äthanolfraktionierung besteht, ist es Seidel, Alaupovic und Furman [50, 51] kürzlich gelungen, ein LD-Lipoprotein aus dem Nüchternplasma von Patienten mit Verschlußikterus zu isolieren, das sich sowohl in seinem Apo-Lipoprotein

wie in seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung von den bisher bekannten Plasmalipoproteinen unterscheidet. In immunologischen Studien konnte von den Autoren deutlich gezeigt werden, daß das isolierte und als LP-X bezeichnete Plasmalipoprotein nicht mit Antiserum gegen α - oder β -Lipoproteine reagiert. Umgekehrt reagiert gereinigtes Anti-LP-X-Serum nur mit LP-X und keinen anderen Plasmalipoproteinen oder Plasmaproteinen. Sowohl die elektrophoretische Mobilität in verschiedenen Trägermedien wie die chemische und physikalische Charakteristik des LP-X und Apo-X zeigen eindeutige Unterschiede zu den bekannten LDL und HDL. Besonders auffällig an der Protein-Lipid-Zusammensetzung des LP-X ist der hohe Gehalt an Phospholipiden (ungefähr 65%) und die Tatsache, daß weniger als 5% des Gesamtcholesterins in veresterter Form vorliegen. Der Proteinanteil beträgt ungefähr 6%. Die abnorme Protein-Lipid-Zusammensetzung des LP-X ist verantwortlich für die Plasmalipidverschiebungen bei Patienten mit Verschlußikterus. Es konnte darüber hinaus von den Autoren [50, 51] gezeigt werden, daß die Konzentrationssteigerung der Lipoproteine in der LDL-Fraktion durch das Auftreten von LP-X bedingt ist. Das LP-B liegt in normaler Konzentration und mit einer nahezu normalen Protein-Lipid-Zusammensetzung in der LDL-Fraktion vor. Der prozentuale Anteil von LP-A in der Dichteklasse d 1,006–1,063 g/ml betrug maximal 2%.

Die differentialdiagnostische Bedeutung des LP-X beim Ikterus

Die von Seidel et al. [50, 51] durchgeführten ersten klinischen Untersuchungen an 61 Patienten mit Ikterus verschiedener Genese (hämolytischer Ikterus, Lipoid-Hepatitis, infektiöse Hepatitis, Cholangiohepatitis, Laennec-Cirrhose, biliäre Cirrhose und extrahepatischer Verschluß) zeigten, daß sich LP-X nur bei Patienten mit intra- oder extrahepatischem Verschluß immunologisch nachweisen läßt und sich bei anderen Ikterusformen nicht findet. Im Plasma von Patienten mit extrahepatischem Verschlußikterus war das LP-X in der Regel 10–14 Tage nach erfolgreicher Operation nicht mehr nachzuweisen. Über ausgedehnte Reihenuntersuchungen wird, zur Abklärung der Treffsicherheit dieses neuen Testes, in Kürze berichtet werden. Der große Vorteil dieses immunologischen Tests ist seine schnelle und einfache Durchführung. Zusätzlich wertvoll, besonders in der Kinderheilkunde, ist die geringe notwendige Menge an Plasma (0,5 ml).

Pathophysiologische Überlegungen zu dem gestörten Plasmalipoproteinmuster des Verschlußikterus

Es ist heute noch nicht sicher geklärt, ob es sich bei dem Proteinanteil des LP-X, dem Apo X, um ein sicher pathologisches oder um ein bisher nicht charakterisiertes, aber immer vorhandenes Protein handelt, das sich nur wegen einer zu geringen Konzentration im Plasma Gesunder nicht nachweisen läßt. Eingehende Untersuchungen zur Beantwortung dieser Frage laufen.

Inwieweit die Plasmakonzentration des LP-X von dem Grad des Gallenverschlusses abhängt, kann noch nicht endgültig beantwortet werden. Da bekannt ist (Olson [52]), daß Gallensäuren einen hemmenden Einfluß auf die sog. Lipoproteinlipase ausüben, könnte eine solche Hemmung auch beim Verschlußikterus eine Rolle spielen und Ursache oder Teilursache der Hyperlipoproteinämie dieser Patienten sein. Das Fehlen des Gallensaftes im Intestinaltrakt scheint keine Rolle in diesem Mechanismus zu spielen, da Philipps [53] von 3 Patienten berichtet, die bei einer Gallengangsfistel normale Plasmalipidwerte zeigten. Der Abfall der HDL-Fraktion wird wahrscheinlich nicht primär durch die Gallenstauung, sondern durch eine sekundäre Leberschädigung bedingt. Dafür sprechen die Befunde von einer Erniedrigung der HDL-Konzentration bei Leberstörungen jeglicher Art. Dies ist verständlich, da der Hauptteil der HDL, wenn nicht alle, in der Leber synthetisiert werden (Marsh [54]; Bungenberg, de Jong [55]). Hingegen muß die Gallenstauung in der Leber einen direkten Einfluß auf die Synthese des LP-X im Sinne einer Steigerung oder auf die Abbaurate des LP-X im Sinne einer Hemmung haben. Das Letztere scheint uns das Wahrscheinlichere zu sein. Es ist sogar denkbar, daß LP-X an einem anderen Ort als in der Leber synthetisiert und nur in der Leber abgebaut wird.

Generell kann gesagt werden, daß die pathophysiologischen Zusammenhänge bei den einzelnen Hyperlipoproteinämien, seien sie familiär oder sekundär im Gefolge anderer Erkrankungen bedingt, nur teilweise aufgedeckt und gesichert sind.

Es zeigt sich jedoch immer deutlicher, daß die Struktur und die Protein-Lipid-Zusammensetzung der Plasmalipoproteine diesbezüglich von entscheidender Bedeutung sind. Dabei spielen wahrscheinlich die Apo-Lipoproteine und die Phospholipide eine zentrale Rolle. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich, wie beim Verschlussikterus, auch bei anderen Hyperlipoproteinämien Plasmalipoproteine finden, die in ihren Bestandteilen von der Norm abweichen.

Zusammenfassung. Der diagnostische Wert einer Analyse der Plasmalipoproteine bei Hyperlipoproteinämien wird betont. Die modernen Klassifizierungsmöglichkeiten der Plasmalipoproteine werden dargestellt. Es hat sich gezeigt, daß hierbei dem Proteinanteil der Plasmalipoproteine, dem sog. Apo-Lipoprotein, eine wachsende Bedeutung zukommt. So ist es gelungen, aus dem Plasma von Patienten mit Verschlussikterus ein Lipoprotein zu isolieren, das sich sowohl in seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung wie in seinem Apo-Lipoprotein von den bisher charakterisierten Plasmalipoproteinen unterscheidet. Es wird auf die neue Möglichkeit zur Differentialdiagnose des Ikterus, die sich aus diesem Befund ergibt, hingewiesen.

Summary. The importance of plasma lipoproteins in the differential diagnosis of hyperlipoproteinemia is indicated. The recognition of the importance of protein moieties to characterize and classify plasma lipoproteins is described. Recent advances in the characterisation of plasma lipoproteins from patients suffering obstructive jaundice are demonstrated. A new test may represent a valuable tool in the differential diagnosis of obstructive and non-obstructive jaundice.

Literatur

- Alaupovic, P.: Recent advances in metabolism of plasma lipoproteins: Chemical aspects. *Progr. biochem. Pharmacol.* **4**, 91 (1968).
- Fredrickson, D. S., R. I. Levy, and R. S. Lees: Fat transport in lipoproteins. An integrated approach to mechanisms and disorders. *New Engl. J. Med.* **276**, 273 (1967).
- Greten, H.: Diagnose und Differenzierung von Hyperlipoproteinämien. *Klin. Wschr.* **47**, 893 (1969).
- Bragdon, J. H., R. J. Havel, and E. Boyle: Human serum lipoproteins. I. Chemical composition of four fractions. *J. Lab. clin. Med.* **48**, 36 (1956).
- Shore, B., and V. Shore: Heterogeneity in protein subunits of human serum high-density lipoproteins. *Biochemistry* **7**, 2773 (1968).
- Shore, V., and B. Shore: Some physical and chemical studies on two polypeptide components of high-density lipoproteins of human serum. *Biochemistry* **7**, 3396 (1968).
- Lee, D. M.: Physical, chemical and immunochemical characterization of human plasma lowdensity lipoproteins. Dissertation, University of Oklahoma, 1967.
- Gustafson, A., P. Alaupovic, and R. H. Furman: Studies of the composition and structure of serum lipoproteins. Separation and characterization of phospholipid-protein residues obtained by partial delipidization of very low-density lipoproteins of human serum. *Biochemistry* **5**, 632 (1966).
- McConathy, W., u. P. Alaupovic: Persönliche Mitteilung 1968.
- Brown, W. V., R. I. Levy, D. S. Fredrickson: Studies on the Proteins of the very low-density lipoproteins. *Fed. Proc.* **28**, 666 (1969).
- Flint, A., Jr.: Experimental researches into a new excretory function of the liver; consisting in the removal of cholesterine from the blood, and its discharge from the body in the form of stercorine. *Amer. J. med. Sci.* **44**, 305 (1862).
- Feigl, J.: Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. III. Fette und Lipide des Blutes. Chemische Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung und Charakteristik spezifischer Lipämien. *Biochem. Z.* **86**, 1 (1918).
- Rothschild, M. A., and J. Felsen: The cholesterol content of the blood in various hepatic conditions. *Arch. intern. Med.* **24**, 520 (1919).
- Thannhauser, S. J., and H. Schaber: Über die Beziehungen des Gleichgewichtes Cholesterin und Cholesterinester im Blut und Serum zur Leberfunktion. *Klin. Wschr.* **5**, 252 (1926).
- Epstein, E. Z.: Cholesterol of the blood plasma in hepatic and biliary diseases. *Arch. intern. Med.* **50**, 203 (1932).
- Man, E. B., B. L. Kartin, S. H. Durlacher, and J. P. Peters: The lipids of serum and liver in patients with hepatic diseases. *J. clin. Invest.* **24**, 623 (1945).
- Ahrens, E. H., Jr.: The relationship between serum lipids and skin xanthomata in 18 patients with primary biliary cirrhosis. *J. clin. Invest.* **28**, 1565 (1949).
- Barr, D. P., E. M. Russ, and H. A. Eder: Protein-lipid relationships in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Amer. J. Med.* **11**, 480 (1951).
- Eder, H. A., and E. M. Russ: Plasma protein-lipid relationships in acute hepatitis. *J. clin. Invest.* **32**, 564 (1953).
- Petersen, V. P.: The individual plasma phospholipids in acute hepatitis. *Acta med. scand.* **144**, 333 (1953).
- Zieve, L.: Studies of liver function tests. III. Dependence of percentage cholesterol esters upon the degree of jaundice. *J. Lab. clin. Med.* **42**, 134 (1953).
- Eder, H. A., E. M. Russ, R. A. Pritchett, M. M. Wilber, and D. P. Barr: Protein-lipid relationships in human plasma: In biliary cirrhosis, obstructive jaundice, and acute hepatitis. *J. clin. Invest.* **34**, 1147 (1955).
- Phillips, G. B.: The lipid composition of serum in patients with liver disease. *J. clin. Invest.* **39**, 1639 (1960).
- Fredrickson, D. S., A. V. Land, B. T. Hinkelman, H. S. Schneider, and I. D. Frantz, Jr.: The effect of ligation on the common bile duct on cholesterol synthesis in the rat. *J. exp. Med.* **99**, 43 (1954).
- Behr, W. T., G. D. Baker, W. L. Anthony, and M. E. Behr: The feedback control of cholesterol biosynthesis. *Henry Ford Hosp. med. Bull.* **9**, June, No 2, 201 (1961).
- Siperstein, M. D., and V. M. Fagan: Feedback control of mevalonate synthesis by dietary cholesterol. *J. biol. Chem.* **241**, 602 (1966).
- Borgström, B.: Studies of the phospholipids of human bile and small intestinal content. *Acta chem. scand.* **11**, 749 (1957).
- Isaksson, B.: On the lipid constituents of normal bile. *Acta Soc. Med. upsalien.* **56**, 177 (1952).
- Phillips, G. B.: The lipid composition of human bile. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **41**, 361 (1960).
- Polonovski, M., and R. Bourrillon: Les phospholipides de la bile. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **34**, 712 (1952).
- Balfour, W. M.: Human plasma phospholipid formation: A study made with the aid of radiophosphorus. *Gastroenterology* **9**, 686 (1947).
- Ahrens, E. H., Jr., and H. G. Kunkel: The stabilization of serum lipid emulsions by serum phospholipids. *J. exp. Med.* **90**, 409 (1949).
- Friedman, M., S. O. Byers, and R. H. Rosenman: Lipogenic hypercholesteremia. *Arch. intern. Med.* **116**, 807 (1965).
- Jackson, R. S., C. F. Wilkinson, Jr., E. A. Hand, A. M. Waldron, and W. C. Vogel: The relationship between the phospholipids and the cholesterol in human plasma and lymph. *Proc. Rudolf Virchow med. Soc. (New York)* **11**, 99 (1952).
- Kunkel, H. G., and E. H. Ahrens, Jr.: The relationship between serum lipids and the electrophoretic pattern, with particular reference to patients with primary biliary cirrhosis. *J. clin. Invest.* **28**, 1575 (1949).
- , and R. J. Slater: Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis. *J. clin. Invest.* **31**, 677 (1952).
- Pierce, F. T., and J. W. Gofman: Lipoproteins, liver disease, and atherosclerosis. *Circulation* **4**, 25 (1951).
- McGinley, J., H. Jones, and J. Gofman: Lipoproteins and xanthomatous diseases. *J. invest. Derm.* **19**, 71 (1952).
- Gofman, J.: The serum lipoprotein transport system in health, metabolic disorders, atherosclerosis, and coronary artery diseases. *Plasma (Milano)* **2**, 484 (1954).
- Furman, R. H., L. L. Conrad, and R. P. Howard: A serum lipoprotein pattern characteristic of biliary obstruction, with some comments on "jaundice due to methyltestosterone". *Circulation* **10**, 586 (1954).
- Havel, R. J., H. A. Eder, and J. H. Bragdon: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. clin. Invest.* **34**, 1345 (1955).
- Lindgren, F. T., and A. V. Nichols: In: *The plasma proteins*, vol. III. New York 1960.
- Furman, R. H., and L. L. Conrad: Ultracentrifugal characterization of the lipoprotein spectrum in obstructive jaundice: Studies of serum lipid relationships in intra- and extrahepatic biliary obstruction. *J. clin. Invest.* **36**, 713 (1957).

44. Cohn, E. J., F. R. N. Gurd, D. M. Surgenor, B. A. Barnes, R. K. Brown, G. Derpiaix, J. M. Gillespie, F. W. Kahnt, W. F. Lever, C. H. Liu, R. F. Mittelman, R. F. Mouton, K. Schmid, and E. Uroma: A system for the separation of the components of human blood: Quantitative procedures for the separation of the protein components of human plasma. *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 465 (1950).
45. Russ, E. M., J. Raymunt, and D. P. Barr: Lipoproteins in primary biliary cirrhosis. *J. clin. Invest.* **35**, 133 (1956).
46. Switzer, S.: Plasma lipoproteins in liver disease: I. Immunologically distinct low-density lipoproteins in patients with biliary obstruction. *J. clin. Invest.* **46**, 1855 (1967).
47. Burstein, M., and J. Caroli: Lipoprotéines sériques anormales au cours de certains icteres par rétention. *Rev. franç. Étud. clin. biol.* **12**, 898 (1967).
48. — — Isolement et étude des lipoprotéines sériques anormales au cours des icteres par rétention après floculation par le polyvinyl-pyrrolidone. *Rev. franç. Étud. clin. biol.* **13**, 387 (1968).
49. DeLalla, L., L. Levine, and R. K. Brown: Immunologic studies of human high density lipoproteins. *J. exp. Med.* **106**, 261 (1957).
50. Seidel, D., P. Alaupovic, and R. H. Furman: A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. I. Method for quantitative separation and identification of lipoproteins in jaundiced subjects. *J. clin. Invest.* **48**, 1211 (1969).
51. — — — A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. II. Isolation and characterization of the protein moieties of low-density lipoproteins. *J. clin. Invest.* Zum Druck eingereicht (1969).
52. Olson, A. C.: The lipolytic activities of rat liver. Dissertation, University of Oklahoma, 1967.
53. Phillips, G. B.: The lipid composition of serum in patients with liver disease. *J. clin. Invest.* **39**, 1639 (1960).
54. Marsh, J. B.: The incorporation of amino acids into soluble lipoproteins by cell-free preparations from rat liver. *J. biol. Chem.* **238**, 1752 (1963).
55. Bungenberg De Jong, J. J., and J. B. Marsh: Biosynthesis of plasma lipoproteins by rat liver ribosomes. *J. biol. Chem.* **243**, 192 (1968).

Dr. D. Seidel
Medizinische Universitätsklinik (Ludolf Krehl-Klinik)
69 Heidelberg, Bergheimerstraße 58