

BIOLOGIE CLINIQUE

Étude du phénotype de la lipoprotéine (a) chez l'Ivoirien.

G. Tiahou (1, 2)*, E. Aveynier (3), P. Djessou (2), D. Sess (2) & J. P. Cristol (1)

(1) Laboratoire de biochimie, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France.

(2) Laboratoire de biochimie, UFR Sciences Médicales, Université de Cocody, Abidjan, Côte-d'Ivoire.

(3) Laboratoire de biochimie, CHU de Grenoble, France.

*Correspondance : * Docteur Tiahou Gnomblésson Georges. 22 BP 983 Abidjan 22, Côte-d'Ivoire. Tél.: 225 22443418. E- mail : tiahoug@yahoo.fr

Manuscrit n° 2690. "Biologie clinique". Reçu le 19 mai 2004. Accepté le 12 avril 2005.

Summary: Study of lipoprotein (a) phenotypes in Ivorian subject.

The objective of this study was to identify the apo (a) phenotypes and to find a correlation between apo (a) isoform size and Lp (a) plasma level in Ivorian subjects.

This study involved 30 healthy subjects (11 females and 19 males) aged of 35 ± 2 years. Lp (a) plasma levels have been determined by technical ELISA, while phenotypes of apo (a) have been identified by agarose high resolution electrophoresis followed by Western blot.

The Lp (a) plasma level in our population was 329 ± 291 mg/l and 30% of our population's Lp (a) plasma levels were above 300 mg/l. 70% of our subjects have homozygous phenotype and 30% have heterozygous phenotype. Three apo (a) isoforms (S2, S3, S4) have been identified in homozygous subjects whereas four apo (a) isoforms (B, S2, S3, S4) have been detected in heterozygous subjects. Their sizes varied from 13 to 33 kringles. 77% of our subjects had apo (a) isoforms whose sizes were above 22 kringles. No correlation has been observed between the size of apo (a) isoforms and the Lp (a) plasma level in homozygous subjects.

Our results highlight apo (a) polymorphism in Ivorians. Homozygous phenotypes and large size apo (a) isoforms predominate in this population.

Résumé:

Cette étude transversale et descriptive avait pour objectif d'identifier les phénotypes et les isoformes de l'apo (a) et de rechercher la corrélation entre les tailles des isoformes de l'apo (a) et les concentrations plasmatiques de la Lp (a) chez l'ivoirien sain.

Cette étude a porté sur 30 sujets ivoiriens sains (11 femmes et 19 hommes) dont l'âge moyen était de 35 ± 2 ans. Les concentrations plasmatiques de la Lp (a) ont été déterminées par une méthode immuno-enzymatique type ELISA, tandis que les phénotypes de l'apo (a) et les tailles des isoformes de l'apo (a) ont été déterminés par une électrophorèse en gel d'agarose haute résolution, associée à un Western blot et une immuno-révélation.

La concentration moyenne de la Lp (a) retrouvée dans notre population était de 329 ± 291 mg/l. 30 % de nos sujets avaient une concentration plasmatique de Lp (a) > 300 mg/l. 70 % des sujets avaient des phénotypes homozygotes et 30 % des sujets avaient des phénotypes hétérozygotes. Aucun sujet ne présentait de phénotype nul. Chez les homozygotes, trois isoformes de l'apo (a) (les isoformes S2, S3 et S4) ont été identifiées tandis que, chez les hétérozygotes, quatre isoformes de l'apo (a) (les isoformes B, S2, S3 et S4), ont été détectés. Les tailles des isoformes de l'apo (a) ainsi mis en évidence dans notre échantillon variaient entre 13 et 33 kringles. Tandis que 77 % des sujets possédaient uniquement des isoformes de grande taille, 23 % exprimaient au moins un isoforme de petite taille aussi bien à l'état homozygote qu'hétérozygote. Aucune corrélation n'a été observée entre la taille des isoformes de l'apo (a) et la concentration plasmatique de la Lp (a) chez les homozygotes.

Nos résultats mettent en évidence l'existence d'un polymorphisme de l'apo (a) chez les Ivoiriens, avec une prédominance des homozygotes et des isoformes de l'apo (a) de grande taille.

Introduction

La lipoprotéine (a) ou Lp (a) est une lipoprotéine formée d'une particule de type LDL liée à une glycoprotéine spécifique appelée apolipoprotéine (a) ou apo (a) par un pont disulfure. L'apo (a) a une séquence en acides aminés qui présente une forte homologie avec le kringle 4, le kringle 5 et

les domaines protéiques du plasminogène. Les études de populations ont révélé l'extrême variabilité des concentrations de la Lp (a) et une grande hétérogénéité de la taille de l'apo (a) entre les individus (3, 5, 9). Le nombre de copies de kringle 4 déterminé génétiquement notamment (15) intervient dans l'hétérogénéité de taille de l'apo (a). Chez les Caucasiens, un taux de Lp (a) > 300 mg/l est considéré comme un facteur

**lipoprotéine (a)
apolipoprotéine (a)
phénotype
Côte-d'Ivoire
Sub-Saharan Africa**

**lipoprotéine (a)
apolipoprotéine (a)
phénotype
Côte-d'Ivoire
Afrique intertropicale**

de risque de survenue précoce de l'athérosclérose. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer l'implication de la Lp (a) dans la pathogénie de l'athérosclérose. Du fait de son homologie de structure avec le plasminogène, l'apo (a) pourrait inhiber la fibrinolyse et provoquer une thrombogénèse. D'autre part, la Lp (a) oxydée pourrait être internalisée par les macrophages et favoriser alors la formation des cellules spumeuses et le dépôt du cholestérol dans la plaque d'athérome. Ainsi, la Lp (a) semble représenter un lien entre l'athérogénèse et la thrombogénèse (9, 14). Des données aussi bien épidémiologiques qu'expérimentales montrent que non seulement une concentration plasmatique de Lp (a) élevée mais aussi la présence d'une isoforme de petite taille de l'apo (a) sont associés à la survenue précoce d'athérosclérose (8, 13). Selon KRONENBERG *et al.* (8), les isoformes de l'apo (a) de petite taille exacerbent l'athérogénicité de la Lp (a). Dès lors, l'appréciation du risque athérogène lié à la Lp (a) nécessite non seulement la détermination du taux plasmatique de la Lp (a), mais aussi celle du phénotype de l'apo (a). Chez les Caucasiens et les Chinois (9, 18), la concentration plasmatique de Lp (a) est inversement corrélée à la taille de l'apo (a). Chez les sujets de race noire, si une étude réalisée chez des Nigériens (1) a révélé une corrélation identique que chez les Caucasiens, des études réalisées chez les Américains (9, 13) et les Zimbabwéens (6) n'ont, quant à elles, révélé aucune corrélation entre la concentration plasmatique de la Lp (a) et la taille de l'apo (a).

Cette étude avait pour objectif d'identifier les phénotypes et les isoformes de l'apo (a) et de rechercher la corrélation entre les tailles des isoformes de l'apo (a) et les concentrations plasmatiques de la Lp (a) chez l'Ivoirien sain.

Matériel et méthodes

Population

Cette étude a porté sur 30 sujets ivoiriens sains (11 femmes et 19 hommes) dont l'âge moyen est de 35 ± 2 ans. Ces sujets ont accepté volontairement de participer à l'étude. Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur tube sec chez des sujets à jeun depuis la veille au soir, au laboratoire de biochimie de l'UFR de sciences médicales, Université d'Abidjan-Cocody. Après centrifugation des prélèvements à 3500 tours/minute pendant 15 minutes, le sérum a été aliquoté et acheminé par voie aérienne dans de la carboglace à -20°C au laboratoire de biochimie du CHU de Grenoble, France, pour la réalisation du phénotypage de l'apo (a).

Dosage de la Lp (a)

La concentration plasmatique de la Lp (a) a été mesurée par une méthode immuno-enzymatique type ELISA non compétitive à double anticorps monoclonaux dirigés contre l'apolipoprotéine (a) et l'apolipoprotéine B (Biosys).

Détermination de la taille des isoformes de l'apo (a)

La méthode utilisée est celle décrite par AVEYNIER *et al.* (3)

Traitement des échantillons

Pour l'électrophorèse, les échantillons ont été dilués dans le tampon de dépôt: Tris 45mM pH 8,2, EDTA 2mM, SDS 6 %, glycérol 2 %, 1-thioglycérol 10 %, bleu de bromophénol 0,2 %, de façon à obtenir une concentration en Lp (a) voisine de $7 \mu\text{g/ml}$. L'étalonnage a été réalisé avec un standard contenant cinq isoformes (Immuno-France) de 14, 19, 23,

27 et 35 kringles 4*, dilué au 1/10 avec le tampon de dépôt. Les échantillons et le standard dilués ont été portés à 100°C au bain-marie pendant 5 minutes. Ce traitement a permis de dissocier l'apolipoprotéine (a) de la particule LDL par rupture des ponts disulfure.

Electrophorèse

Après le dépôt de $4,5 \mu\text{l}$ de standard et 3 et $7 \mu\text{l}$ de chacun des échantillons sur un gel d'agarose à 1,5 % (Agarose ultrapure, Electrophoresis grade, Gibco), la migration des isoformes de l'apo (a) a été faite en sous-marin dans le tampon Tris 45mM pH 8,3, acide borique 45mM, EDTA 2 mM pendant 18 heures à 65 V et à 4°C (cuve Pharmacia GN 200).

Western-blot

Les isoformes ainsi séparées selon leur poids moléculaire ont ensuite été transférées par capillarité sur une membrane de nitrocellulose de porosité $0,45 \mu\text{m}$ (Schleicher et Schuell) à l'aide d'un appareil Turbo-blotter (Schleicher et Schuell), en tampon Tris 25 mM, glycine 192 mM pH 8,3, méthanol 10 %, SDS 0,1 % pendant 1 heure à température ambiante.

Immuno-révélation et détermination de la taille des isoformes de l'apo (a)

Après saturation de la membrane avec une solution de blocage composée de lait écrémé en poudre à 5 % et de Tween 20 à 0,05 % dans du PBS pH 7,4, la membrane est incubée à 4°C pendant une nuit avec un antisérum QO23 polyclonal anti-Lp (a) (Dako) dilué au 1/1000, suivi d'une incubation de 1 heure à température ambiante avec la protéine A marquée à la peroxydase (Bio-Rad) diluée au 1/2500. Après lavage de la membrane avec un tampon PBS pH 7,4 contenant 0,05 de Tween 20, les bandes de migration des isoformes ont été révélées avec un substrat luminescent de la peroxydase (kit ECL, Amersham). Les distances de migration des isoformes ont été mesurées par densitométrie (appareil Desaga CD60) des films à 420 nm en fonction de la distance de migration de l'isoforme standard la plus cathodique, considérée comme distance 0. Les tailles des isoformes de l'apo (a) des sujets (nombres de kringles 4) ont été déterminées en rapportant leurs distances de migration à la courbe d'étalonnage tracée en portant la distance de migration de chaque isoforme du standard en fonction du nombre de kringles 4 correspondant.

Analyses statistiques

L'analyse des résultats a été effectuée à l'aide du logiciel de statistiques Epi-Info version 6 (CDC, Atlanta). La corrélation entre la taille des isoformes de l'apo (a) en nombre de kringles 4 et la concentration plasmatique de Lp (a) a été étudiée par le test de régression linéaire au risque 5 %. La comparaison des proportions a été faite à l'aide du test exact de Fisher. Afin de comparer nos résultats avec d'autres auteurs, nous avons classé les isoformes de l'apo (a) en cinq groupes (B, S1, S2, S3, S4) selon la classification de COUDERC *et al.* (5): les isoformes B, S1, S2, S3, S4 possèdent respectivement <17, 17-19, 20-22, 23-25, >26 kringles 4. Les sujets exprimant un seul isoforme (une seule bande de migration électrophorétique) sont de phénotype homozygote tandis que ceux exprimant deux isoformes (deux bandes de migration électrophorétique), sont de phénotype hétérozygote. Les sujets ne possédant aucune bande de migration électrophorétique sont de phénotype nul.

* Kringle : terme allemand utilisé pour désigner un domaine – ou un motif structural – de certaines protéines dans lesquelles un ensemble de grandes boucles est stabilisé par un pont disulfure. C'est un trait de structure important dans les protéines de la coagulation.

Résultats

Phénotypes et isoformes de l'apo (a)

Les phénotypes de l'apo (a) ont été déterminés chez 30 sujets ivoiriens sains. La distribution des phénotypes homozygotes et hétérozygotes avec leurs concentrations plasmatiques correspondantes est résumée dans le tableau I.

Tableau I.

Fréquences des phénotypes et des isoformes de l'apo (a) identifiés dans la population étudiée et les concentrations plasmatiques moyennes correspondantes.

Frequencies of phenotypes and apo (a) isoforms identified in the studied population and corresponding average plasma levels.

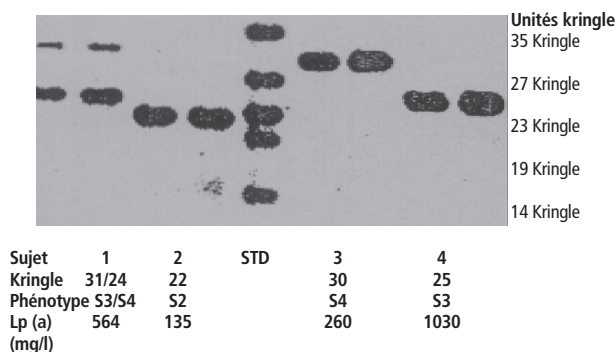
phénotypes	effectifs	fréquences (%)	concentrations Lp (a) (mg/l)
nul	0	0	
homozygotes	21	70	
B	0	0	
S1	0	0	
S2	4	13,3	271 ± 189
S3	4	13,3	567 ± 361
S4	13	43,3	212 ± 124
hétérozygotes	9	30	
B/S1	0	0	
B/S2	1	3,3	135
B/S3	0	0	
B/S4	1	3,3	210
S1/S2	0	0	
S1/S3	0	0	
S1/S4	0	0	
S2/S3	0	0	
S2/S4	1	3,3	280
S3/S4	6	20	354 ± 338
total	30	100	329 ± 291

Il en ressort que 70 % des sujets étaient homozygotes (vs 30 % d'hétérozygotes). Chez les homozygotes, trois isoformes de l'apo (a), à savoir les isoformes S2 (13,3 %), S3 (13,3 %) et S4 (43,3 %) ont été identifiés. Par contre, les isoformes B et S1 n'ont pas été détectés. Chez les hétérozygotes, quatre isoformes de l'apo (a), à savoir les isoformes B, S2, S3 et S4, ont été identifiés. La figure 1 montre que le sujet n°1 présentait un phénotype hétérozygote (identification de deux isoformes S3 et S4), tandis que les sujets n° 2, n° 3 et n° 4, avaient des phénotypes homozygotes, avec respectivement des isoformes S2, S4, S3 identifiés. Le phénotype nul n'a pas été détecté. 21 sujets sur 30 (70 %) possédaient l'isoforme S4 (plus de 26 kringle 4) à un état homozygote ou hétérozygote.

Figure 1

Phénotypes de l'apo (a) identifiés dans la population étudiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 % suivie d'un Western blot.

Apo (a) phenotypes identified in the observed population by 1.5% agarose electrophoresis followed by Western blot.



Taille des isoformes de l'apo (a) et concentration de la Lp (a)

La concentration moyenne de la Lp (a) mesurée dans notre population était de 329 ± 291mg/l. Chez 30 % des sujets de notre échantillon (soit 9 sujets), on constatait une concentration plasmatique de Lp (a) > 300 mg/l. Les tailles des isoformes de l'apo (a) détectés dans notre échantillon variaient entre 13 et 33 kringle 4. Les isoformes de l'apo (a) ont été classifiés selon leur taille (nombre de kringle 4) en isoformes de petite taille (taille ≤ 22 kringle 4) et en isoformes de grande taille (taille > 22 kringle 4). Le tableau I montre ainsi que 23 sujets (77 %) possédaient uniquement des isoformes de grande taille tandis que 7 sujets (23 %) exprimaient au moins un isoforme de petite taille aussi bien à l'état homozygote qu'hétérozygote. L'étude de la répartition de la population étudiée en fonction de la concentration sérique de la Lp (a) > 300 mg/l et des isoformes de l'apo (a) < 22 kringle 4 résumée dans le tableau II, révèle que les différences observées entre les proportions obtenues ne sont pas significatives (test exact de Fisher bilatéral = 0,3932 p > 0,05).

Tableau II.

Distribution des concentrations de la Lp (a) selon les isoformes de l'apo (a) dans la population étudiée.

Distribution of Lp (a) levels according to apo (a) isoforms in the population of the study

population	Lp (a) > 300 mg/l	Lp (a) < 300 mg/l	total
nul	0	0	
sujets possédant au moins un isoforme de petite taille (B, S1)	1	6	7
sujets possédant uniquement des isoformes de grande taille (S2, S3, S4)	8	15	23
total	9	21	30

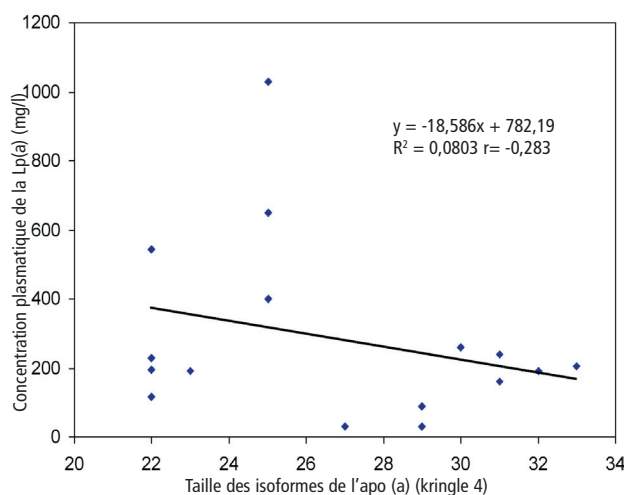
Test exact de Fisher = 0,3932, différences observées non significatives au risque 5 %

La figure 2 montre que l'étude de la corrélation a mis en évidence une relation inverse (r = -0,28) entre la taille des isoformes de l'apo (a) et la concentration plasmatique de la Lp (a) chez les homozygotes. Mais cette corrélation n'était pas significative au risque 5 %.

Figure 2

Etude de la corrélation entre les concentrations plasmatiques de la Lp (a) et les tailles des isoformes de l'apo (a) chez les homozygotes.

Study of the correlation between Lp (a) plasma levels and sizes of the apo (a) isoforms among hozygotous subjects.



Discussion

Phénotypes et isoformes de l'apo (a)

Notre étude met en évidence l'existence d'un polymorphisme de l'apo (a) chez les Ivoiriens comme chez les Caucasiens et chez d'autres sujets de race noire (1, 2, 6, 9, 10, 11). Les fréquences des sujets présentant un phénotype homozygote (exprimant un seul isoforme de l'apo (a)) et des sujets présentant un phénotype hétérozygote (exprimant deux isoformes différents de l'apo (a)) observées dans notre étude, étaient respectivement de 70 % et 30 %. La prédominance des phénotypes homozygotes constatée dans notre étude semble ne pas être un trait caractéristique de notre population d'étude. En effet, ces fréquences sont similaires à celles rapportées dans des études européennes et asiatiques (5, 11, 17). Le faible taux de phénotypes hétérozygotes observé dans notre échantillon semble être dû à la surexpression de l'isoforme S4. Des phénotypages de l'apo (a) réalisés sur gel d'agarose à haute résolution ont mis en évidence des proportions de phénotypes homozygotes variant entre 32 % et 81 % (7, 9). Bien que les raisons de cette divergence soient encore mal élucidées, VALENTI *et al.* (17) ont montré que la détection d'un isoforme était au moins en partie liée à sa taille. Ainsi, le faible nombre d'hétérozygotes détectés dans notre étude pourrait être dû à la non détection d'isoformes ayant un nombre élevé de kringle 4 supérieur à 35. Nos résultats semblent révéler une tendance à une forte expression des isoformes de grande taille dans notre échantillon. En effet, 21 sujets sur 30 (70 %) possédaient l'isoforme S4 (plus de 26 kringle 4) à un état homozygote ou hétérozygote. Vingt-trois sujets (77 %) possédaient uniquement des isoformes de grande taille, tandis que 7 sujets (23 %) exprimaient au moins un isoforme de petite taille aussi bien à l'état homozygote qu'hétérozygote. Ces fréquences sont similaires à celles rapportées par des études réalisées chez les Nigériens (70 %) (1), les Zimbabwéens (75 %) (6) et chez certains Caucasiens (5, 9). Bien que la taille (nombre de kringle 4) des isoformes de l'apo (a) ait un déterminisme génétique (4, 12, 16), sa distribution chez les Caucasiens et les sujets de race noire ne semble pas être un facteur de différenciation entre ces deux populations.

Taille des isoformes de l'apo (a), concentration de la Lp (a) et risque athérogène

À la différence des Caucasiens et des Nigériens chez qui une corrélation inverse et significative a été mise en évidence entre la concentration de Lp (a) et la taille de l'apo (a) (1, 9, 13), une corrélation inverse mais non significative a été retrouvée entre ces deux paramètres dans notre étude. Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés chez les Américains noirs et les Zimbabwéens (6, 9, 13). Ces observations semblent suggérer que contrairement aux Caucasiens, d'autres facteurs semblent être impliqués dans les variations des concentrations plasmatiques de la Lp (a) chez le sujet noir en général, et ivoirien en particulier. Selon SCHOLZ *et al.* (16), le gène de l'apo (a) situé sur le chromosome 6q27 est le principal locus qui contrôle la totalité des variations génétiques de la Lp (a) chez les Caucasiens. Chez les Africains par contre, ce locus ne contrôlerait que 50 % des variations génétiques, d'autres facteurs génétiques distincts du locus de l'apo (a) pourraient jouer un rôle important. OGORELKOVA *et al.* (12) ont procédé à l'analyse des SNPs (single nucleotide polymorphisms) des exons et introns des kringle 4 types 6, 8, 9, 10 de l'apo (a), et rechercher leur influence sur la concentration de Lp (a) chez les Caucasiens et les Africains. Ils ont trouvé que les substi-

tutions S37F du kringle 4 type 6 et G17R du kringle 4 type 8 étaient associées à des concentrations de Lp (a) nettement inférieures aux concentrations moyennes retrouvées chez l'Africain. En revanche, les substitutions R18W du kringle 4 type 9 étaient associées à des concentrations de Lp (a) élevées. D'après ces auteurs, la présence de plusieurs SNPs dans les séquences nucléotidiques du gène de l'apo (a) influencerait la concentration plasmatique de la Lp (a). Selon DUBE *et al.* (6), des facteurs métaboliques et environnementaux pourraient aussi participer à l'élévation des concentrations plasmatiques de la Lp (a) chez les Africains.

Conclusion

Des données épidémiologiques et expérimentales ont montré que non seulement une concentration plasmatique de Lp (a) > 300 mg/l, mais aussi la présence d'une isoforme de petite taille de l'apo (a) (<22 kringle 4) étaient associés à un risque accru de survenue précoce d'athérosclérose, aussi bien chez les Caucasiens que chez les sujets de race noire (8, 9, 13). Les résultats que nous avons obtenus ne permettent pas d'évaluer le risque athérogène lié à la Lp (a) dans notre échantillon. Néanmoins, l'absence de corrélation significative entre les tailles des isoformes de l'apo (a) et les concentrations plasmatiques de la Lp (a) rend nécessaire la détermination du phénotype de l'apo (a) chez les Africains.

Références bibliographiques

1. ALI S, BUNKER CH, ASTON CE, UKOLI FA & KAMBOH MI - Apolipoprotein (a) kringle 4 polymorphisms and serum lipoprotein (a) concentrations in African blacks. *Hum Biol*, 1998, **70**, 477-490.
2. ANGLES-CANO E, LOYAU S, CARDOSO-SALDANA G, COUDERC R & GILLERY P - A novel Kringle-4 number - based recombinant apo (a) standard for human apo (a) phenotyping. *J Lipid Res*, 1999, **40**, 354-359.
3. AVEYNIER E, PERONNON C, VALENTI K & LAPORTE F - Détermination de la taille des isoformes de l'apo (a). Intérêt et limites du phénotypage par électrophorèse en gel d'agarose à haute résolution. *Ann Biol Clin*, 1998, **56**, 73-78.
4. BARKLEY RA, BROWN AC, HANIS CL, KARDIA SL, TURNER ST & BOERWINKLE E - Lack of genetic linkage evidence for a trans-acting factor having a large effect on plasma lipoprotein (a) levels in African-Americans. *J Lipid Res*, 2003, **44**, 1301-1305.
5. COUDERC R, PEOC'H K, VALENTI K, DIOP ME, BAILLEUL S *et al.* - A simple electrophoretic method phenotyping apo (a): Phenotype frequency in healthy subjects from Paris, France. *Clin Chem*, 1998, **44**, 1047-1050.
6. DUBE N, VOORBIJ R, LEUS F & GOMO ZA - Lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein (a) isoform distribution in Zimbabwean population. *Cent Afr J Med*, 2002, **48**, 83-87.
7. KAMBOH MI, FERRELL RE & KOTTKEP BA - Expressed hyper-variable polymorphism of apolipoprotein (a). *Am J Hum Genet* 1991, **49**, 1063-1074.
8. KRONENBERG F, KRONENBERG MF, KIECHL S, TRENKWALDER E, SANTER P *et al.* - Role of lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) phenotype in atherogenesis: prospective results from the Bruneck study. *Circulation*, 1999, **100**, 1154-1160.
9. MARCOVINA, SM, ALBERS JJ, WIJSMAN E, ZHANG Z, CHAPMAN NH & KENNEDY H - Differences in Lp (a) concentration and apo (a) polymorphs between blacks and white Americans. *J lipid Res*, 1996, **37**, 2569-2585.
10. MARTIN S, LADONA MG, PEDRO-BOTET J, COVAS MI &

- RUBIES-PRAT J - Differential expression of double - band apolipoprotein (a) phenotypes in healthy spanish subjects detected by SDS - agarose immunoblotting. *Clin Chim Acta*, 1998, **227**, 191-205.
11. MIN WK, LEE JO, KIM H, SONG J & KIM JQ - Identification of apo (a) phenotypes in Korean population using a standardized nomenclature system based on the number of Kringle 4 repeats. *Ann Clin Biochem*, 1997, **34**, 681-687.
12. OGORELKOVA M, KRAFT HG, EHNHOLM C & UTERMAN G - Single nucleotide polymorphisms in exons of the apo (a) kringle 4 types 6 to 10 domain affect Lp(a) plasma concentrations and have different patterns in Africans and Caucasians. *Hum Mol Genet*, 2001, **10**, 815-824.
13. PAULTRE F, PEARSON TA, WEIL HFC, TUCK CH, MYERSON M *et al.* - High level of Lp(a) with a small apo (a) are associated with coronary artery disease in African American and white men. *Arterioscler thromb vasc Biol*, 2000, **20**, 2619-2624.
14. RANDALL OS, FESEHA HB, ILLOH K, XU S, KETETE M *et al.* - Response of lipoprotein (a) levels to therapeutic life-style change in obese African-Americans. *Atherosclerosis*, 2004, **172**, 155-160.
15. RUBIN J, PAULTRE F, TUCK CH, HOLLERAN S, REED RG *et al.* - Apolipoprotein (a) genotype influences isoform dominance pattern differently in African Americans and Caucasians. *J Lipid Res*, 2002, **43**, 234-244.
16. SCHOLZ M, KRAFT HG, LINGENHEL A, DELPORT R, VORSTER EH *et al.* - Genetic control of lipoprotein (a) concentrations is different in Africans and Caucasians. *Eur J Hum Genet*, 1999, **7**, 169-178.
17. VALENTI K, AVEYNIER E, LAPORTE F & HADJIAN AJ - Evaluation of the genotyping and phenotyping approaches in the investigation of apolipoprotein (a) size polymorphism. *Clin Chim Acta*, 1997, **263**, 249-260.
18. XIONG Z, WAHLQVIST ML, HSU-HAGE HHB, BIEGLER BM, BALAZS NDH *et al.* - Factors contributing to variation in lipoprotein (a) in a Melbourne Chinese population. *Nutr Res*, 2002, **22**, 553-565.