

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Kristýna Kaválková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví (B0914P360004)

Kristýna Kaválková

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví (B0914P360004)

DYSLIPIDÉMIE A ATEROSKLERÓZA, POROVNÁNÍ STANOVENÍ LDL-CHOLESTEROLU PŘÍMOU A NEPŘÍMOU METODOU V ZÁVISLOSTI NA HDL-CHOLESTEROLU

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Roman Cibulka, Ph.D., MBA

PLZEŇ 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 20. 3. 2023.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Kaválková Kristýna

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Dyslipidémie a ateroskleróza, porovnání stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou v závislosti na HDL-cholesterolu

Vedoucí práce: MUDr. Roman Cibulka, Ph.D., MBA

Počet stran – číslované: 46

Počet stran – nečíslované: 17

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 28

Klíčová slova: ateroskleróza, dyslipidémie, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Friedewaldova rovnice, přímé stanovené LDL-cholesterolu

Souhrn:

Tato bakalářská práce je rozdělena na část teoretickou a praktickou. Teoretická část je zaměřena na fyziologické i patofyziologické procesy spojené s tematikou krevních lipidů. V této části je popsána charakteristika, metabolismus a stanovení lipidů. Dále je zde také věnována pozornost klasifikaci, diagnostice a léčbě dyslipidemií, stejně jako popisu etiologie, patogeneze a významu aterosklerózy a jejích hlavních rizikových faktorů. V praktické části je popsána metodika, výsledky a vyhodnocení výzkumu. Tato část bakalářské práce je zaměřena na vyhodnocení rozdílu mezi přímým a nepřímým stanovením LDL-cholesterolu a možným vlivem HDL-cholesterolu na případný rozdíl. Výsledkem provedeného výzkumu bylo zjištěno, že mezi hodnotami LDL-cholesterolu získaného měřením a výpočtem je rozdíl. Tento rozdíl je způsoben vlivem HDL-cholesterolu, triacylglycerolů a celkového cholesterolu. Vliv HDL-cholesterolu byl zaznamenán, pouze pokud jeho hodnoty byly nízké a s jeho vzrůstající koncentrací se vliv snižoval.

Abstract

Surname and name: Kaválková Kristýna

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Dyslipidemia and atherosclerosis, comparison of LDL-cholesterol determination directly and indirectly by the method depending on HDL-cholesterol

Consultant: MUDr. Roman Cibulka, Ph.D., MBA

Number of pages – numbered: 41

Number of pages – unnumbered: 16

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 28

Keywords: atherosclerosis, dyslipidemia, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Friedewald equation, direct determination of LDL-cholesterol

Summary:

This bachelor's thesis is divided into a theoretical part and a practical part. The theoretical part focuses on physiological and pathophysiological processes related to the topic of blood lipids. This section describes the characterization, metabolism and determination of lipids. Also, attention is paid to the classification, diagnosis and treatment of dyslipidemias, as well as to the description of the etiology, pathogenesis and significance of atherosclerosis and its main risk factors. The practical part describes the methodology, results and evaluation of the research. This part of the thesis is focused on evaluating the difference between direct and indirect determination of LDL-cholesterol and the possible influence of HDL-cholesterol on possible difference. As a result of the research, it was found that there is a difference between the values of LDL-cholesterol obtained by measurement and calculation. This difference is due to the effect of HDL-cholesterol, triacylglycerols and total cholesterol. The effect of HDL-cholesterol was noted only if its values were low and the effect decreased with its increasing concentration.

Předmluva

Téma této bakalářské práce jsem si zvolila proto, abych si prohloubila znalosti související s tématem aterosklerózy, jakožto hlavní příčinou mortality a morbidit obyvatelstva v důsledku kardiovaskulárních onemocnění. S tímto pojmem úzce souvisí také problematika dyslipidemií, které jsou jedním z hlavních rizikových faktorů aterosklerózy. Má bakalářská práce byla napsána s cílem přiblížit problematiku zabývající se fyziologií i patologií metabolismu lipidů, stejně jako jejich laboratorními stanoveními. Úkolem této práce je zhodnotit rozdíl mezi přímým (měřeným) a nepřímým (vypočteným) LDL-cholesterolem a vlivu HDL-cholesterolu na jejich případný rozdíl.

Poděkování

Děkuji MUDr. Romanu Cibulkovi, Ph.D., MBA za odborné vedení práce, poskytování rad, materiálních podkladů, trpělivost a ochotu. Dále děkuji Ing. Janu Očenáškoví, Ph.D. za statistické zhodnocení dat. Poděkovat bych také chtěla své sestře RNDr. Petře Kaválkové, Ph.D. za podporu a pomoc při psaní.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	10
SEZNAM TABULEK	11
SEZNAM ZKRATEK	12
ÚVOD.....	14
TEORETICKÁ ČÁST	15
1 LIPIDY A DYSLIPIDÉMIE	15
1.1 Fyziologicky významné lipidy, jejich transport a metabolismus	15
1.1.1 Triacylglyceroly.....	15
1.1.2 Mastné kyseliny	16
1.1.3 Fosfolipidy.....	16
1.1.4 Cholesterol.....	17
1.1.5 Lipoproteiny	17
1.2 Stanovení lipidů	20
1.2.1 Stanovení triacylglycerolů.....	21
1.2.2 Stanovení celkového cholesterolu	22
1.2.3 Stanovení HDL-cholesterolu	23
1.2.4 Stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou.....	24
1.3 Dyslipidémie a jejich charakteristika.....	25
1.3.1 Klasifikace dyslipidemií	26
1.3.2 Diagnostika a screening dyslipidemií.....	27
1.3.3 Léčba dyslipidemií	28
2 ATEROSKLERÓZA	30
2.1 Etiologie a patogeneze aterosklerózy.....	30
2.2 Význam aterosklerózy	31
2.3 Rizikové faktory aterosklerózy	32
2.3.1 Hlavní neovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy	33
2.3.2 Hlavní ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy.....	33
PRAKTICKÁ ČÁST	35
3 CÍL A ÚKOLY PRÁCE	35
3.1 Hlavní cíl.....	35
3.2 Dílčí cíle.....	35
4 VÝZKUMNÉ OTÁZKY	36
5 METODIKA PRÁCE A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	37
5.1 Přímé stanovení LDL-cholesterolu	37
5.2 Nepřímé stanovení LDL-cholesterolu	39

5.2.1	Přímé stanovení celkového cholesterolu	39
5.2.2	Přímé stanovení triacylglycerolů	40
5.3	Přímé stanovení HDL-cholesterolu.....	41
5.4	Přístrojové vybavení	42
6	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	43
7	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	44
	DISKUZE	55
	ZÁVĚR.....	58
8	CITOVANÁ LITERATURA	59

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Porovnání průměrných hodnot a mediánů LDL-cholesterolu stanoveného přímou a nepřímou metodou.....	44
Graf 2 Porovnání mediánů LDL-cholesterolu výpočtem a měřením v závislosti na HDL-cholesterolu.....	49
Graf 3 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 0-0,99 mmol/l.....	50
Graf 4 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 0,99-1,99 mmol/l.....	52
Graf 5 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 2,0 mmol/l a vyšší	53

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Interference pro přímé stanovení LDL-C	38
Tabulka 2 Korelace hodnot měřených veličin ve skupině všech pacientů	45
Tabulka 3 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 0,0-0,99 mmol/l.....	46
Tabulka 4 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 1,0-1,99 mmol/l.....	47
Tabulka 5 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 2,0 mmol/l a více.....	48
Tabulka 6 Porovnání mediánů LDL-cholesterolu v závislosti na HDL-cholesterolu	49
Tabulka 7 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-cholesterolem 0-0,99 mmol/l	50
Tabulka 8 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-C 0,99-1,99 mmol/l.....	51
Tabulka 9 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-C 2,0 mmol/l a vyšší	52
Tabulka 10 Porovnání mediánů triacylglycerolů a celkového cholesterolu v závislosti na HDL-cholesterolu	53

SEZNAM ZKRATEK

Apo	apolipoprotein
BKK.....	blokátory kalciového kanálu
CoA	Koenzym A
DLP.....	dyslipidémie
DM.....	diabetes mellitus
HDL.....	high density lipoprotein; lipoproteiny o vysoké hustotě
Hg	rtuť
HLP.....	hyperlipidémie
IDL	intermediate density lipoprotein; lipoproteiny o střední hustotě
IM	infarkt myokardu
KV	kardiovaskulární
KVO	kardiovaskulární onemocnění
l	litr
LACT	lecitincholesterolacyltransferáza
LDL	low density lipoprotein; lipoproteiny o nízké hustotě
LIS	laboratorní informační systém
ml	mililitr
mm.....	milimetr
mmol	milimol
nm.....	nanometr
PCSK9	proprotein konvertáza subtilisin kexin typu 9

RAA..... renin-angiotenzin-aldosteron

RF rizikový faktor

TAG triacylglycerol

VLDL very low density lipoprotein; lipoproteiny o velmi nízké hustotě

ÚVOD

Bakalářská práce s názvem „Dyslipidémie a ateroskleróza, porovnání stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou v závislosti na HDL-cholesterolu“ se zabývá charakteristikou obou uvedených patologií metabolismu lipidů. V této práci jsou také popsány fyziologicky významné lipidy, jejich transport, metabolismus a stanovení.

Ateroskleróza je závažné chronické onemocnění, které je hlavní příčinou mortality a morbidity obyvatelstva. Jedná se o nemoc způsobenou hromaděním lipidů v cévní stěně s jejich následnou kalcifikací. Závažnost této nemoci tkví v zužování až úplné obstrukci cév vedoucí k infarktu myokardu nebo cévní mozkové příhodě. Dyslipidémie jsou pak jedním z hlavních rizikových faktorů aterosklerózy. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

V teoretické části se dále věnuji hlavním rizikovým faktorům, které k ateroskleróze vedou, stejně jako klasifikaci, diagnostice a léčbě dyslipidemií. Také zde popisuji laboratorní stanovení krevních lipidů, se zaměřením na stanovení LDL a HDL-cholesterolu, kterým je věnována pozornost v části praktické.

LDL-cholesterol je důležitý marker pro určení kardiovaskulárního rizika. Jeho zvýšená hladina vede ke vzniku aterosklerózy. Hodnoty tohoto lipoproteinu vedou k zahájení hypolipidemické léčby a také ke sledování její účinnosti. Ke stanovení hladiny LDL-cholesterolu můžeme využít metody přímé a nepřímé. HDL-cholesterol je částice, která se podílí na snižování hladiny cholesterolu v krvi. (Koolman, Röhm, 2012)

Hlavním cílem práce bylo zjistit, zda je rozdíl mezi stanoveními LDL-cholesterolu přímou (měřením) a nepřímou (výpočtem) metodou a jaký vliv má na jejich hodnoty HDL-cholesterol.

TEORETICKÁ ČÁST

1 LIPIDY A DYSLIPIDÉMIE

Lipidy jsou heterogenní skupinou látek, pro které je typická dobrá rozpustnost v organických rozpouštědlech (aceton, chloroform, benzen) a naopak špatná v polárních rozpouštědlech (voda). Do této skupiny řadíme mastné kyseliny, tuky, oleje, steroidy, vosky aj. chemicky příbuzné sloučeniny. Lipidy jsou látky nepostradatelné pro náš organismus. Jedná se o hodnotný zdroj energie, která je uložena v tukových buňkách (adipocytech) v podkožní i viscerální tukové tkáni. Mají funkci tepelných a mechanických izolátorů vnitřních orgánů. Ve formě fosfolipidů jsou součástí buněčné membrány, jsou prekurzorem hormonů, slouží jako rozpouštědlo pro lipofilní vitamíny (A, D, E, K) a lipoproteiny jsou transportní formou plazmatických lipidů. Pochopení funkce a metabolismu lipidů je naprosto stěžejní pro dnešní medicínu, protože jejich patologie mají vztah například k obezitě nebo ateroskleróze. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

1.1 Fyziologicky významné lipidy, jejich transport a metabolismus

Mezi fyziologicky významné lipidy řadíme steroidy společně s mastnými kyselinami a jejich estery. Jedná se o heterogenní skupinu, kterou můžeme také souhrnně nazývat plazmatické lipidy. (Češka, 2012)

1.1.1 Triacylglyceroly

Triacylglyceroly, jinak také triglyceridy nebo TAG, patří mezi hydrolyzovatelné lipidy a jednoduché estery. Jsou složeny z 1 glycerolu (trojsytný alkohol) a 3 acylových zbytků. Jedná se o látky, které jsou běžnou složkou živočišných ale i rostlinných tuků a které v našem organismu slouží jako zdroj energie nebo tepelný či elektrický izolátor. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Protože jsou TAG běžnou součástí potravy, jejich metabolismus a odbourávání začíná během trávení, kdy jsou štěpeny. Za rozklad jsou zodpovědné lipázy, které TAG štěpí na monoacylglyceroly a mastné kyseliny. Tyto rozkladné produkty se vstřebávají do enterocytů, kde se syntetizují nové triacylglyceroly. Nově vytvořené TAG se zabudovávají do chylomykronů, kterými jsou transportovány nejprve do krve a posléze do tkání, kde se dále metabolizují. (www.studiumbiochemie.cz, on-line); (www.galenus.cz, on-line)

1.1.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou hlavní složkou TAG, přičemž jejich povaha určuje druh tuku. Jedná se o látky, které jsou pro náš organismus velmi důležité a to nejen pro jejich strukturní funkci, ale hrají také roli např. ve správném vývoji centrálního nervového systému. Mastné kyseliny můžeme rozdělit dle délky jejich řetězce, tj. dle počtu uhlíků, a to na krátké (kyseliny - octová, máselná a propionová) a na ty které mají střední, dlouhý nebo velmi dlouhý řetězec. Kyseliny s dlouhým řetězcem, můžeme ještě dále dělit dle jejich vazeb a to na nasycené a nenasycené. Pro nasycené kyseliny je charakteristická přítomnost jednoduchých vazeb a naopak pro kyseliny nenasycené je typická přítomnost alespoň jedné dvojně vazby. Přítomné vazby v mastných kyselinách pak ovlivňují konzistenci tuků, tzn. čím více je tuk kapalný, tím více má v sobě dvojných vazeb (rostlinné oleje). Naopak pokud jsou v mastných kyselinách vazby jednoduché, tedy nasycené, tuky jsou pevnými látkami (živočišné tuky). V souvislosti s mastnými kyselinami je také důležitá jejich konfigurace, která může být cis nebo trans. Obzvláště trans mastné kyseliny mají na náš organismus negativní vliv. Vyskytují se v nevhodně upravených tucích, jejichž příjem potravou představuje jeden z rizikových faktorů aterosklerózy a jiných chorob vyvolaných nevhodným životním stylem, který podporuje dnešní doba. Příkladem nevhodných tuků mohou být ztužené nebo přepálené oleje. (Racek, Rajdl, 2021); (www.medicinapropraxi.cz, on-line)

Mastné kyseliny jsou látky vznikající z různých prekurzorů. Těmi mohou být lipidy z potravy, avšak k jejich syntéze může docházet i *de novo*. Mastné kyseliny tak mohou vznikat z acetyl-CoA, jehož zdrojem jsou sacharidy či aminokyseliny. Na acetyl-CoA se mohou také oxidovat. Pokud jsou esterifikovány s glycerolem, mohou tak vznikat triacylglyceroly, což jsou tuky, které slouží jako zásobárna energie pro organismus. (Murray, 2012)

1.1.3 Fosfolipidy

Fosfolipidy jsou, vzhledem k jejich stavbě, složitější lipidy. Společným znakem jejich molekul je vazba kyseliny fosforečné na alkohol. Podle povahy alkoholu, na který je kyselina navázána rozeznáváme - glycerolfosfolipidy a sfingofosfolipidy. Jedná se o rozmanitou skupinu látek plnící v našem těle řadu funkcí. Jsou obsaženy v membránách buněk i jejich organelách. Glycerolfosfolipidy spolu s glykolipidy, cholesterolem a bílkoviny tvoří lipidovou dvojvrstvu, která je součástí buněčných membrán. Obsaženy jsou také v lipoproteinech, které díky své schopnosti emulgace stabilizují. Krom stabilizace ovlivňuje obsah plazmatických fosfolipidů v LDL částicích rozpustnost lipoproteinů. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021); (www.galenus.cz, on-line)

Fosfolipidy jsou látky, které není nutno přijímat potravou. Naše tělo má schopnost je syntetizovat téměř ve všech tkáních našeho těla. Největší podíl na plazmatických fosfolipidech má jejich syntéza v játrech. Transport a metabolismus fosfolipidů je úzce spjat především s lipoproteiny a jejich metabolická cesta končí v játrech. Zde jsou hydrolyzovány jaterní i lipoproteinovou lipázou a díky vysokému obsahu kyseliny arachidonové tvoří patrně její zdroj pro organismus. (www.galenus.cz, on-line); (Češka, 2012)

1.1.4 Cholesterol

Cholesterol je steroidní látka, která vzniká metabolickou přeměnou acetyl-CoA a z něho vzniklých izoprenoidů. Takto vzniklý cholesterol nazýváme endogenní a naše tělo je schopno vyprodukovat cca $\frac{2}{3}$ potřebného množství. Proces tvorby endogenního cholesterolu je energeticky náročný, podílí se na něm velké množství enzymů a probíhá v největší míře v játrech. Podíl této endogenní syntézy se zvyšuje, pokud u cholesterolu dojde k poruše transportu z krve do tkání. Zbylá $\frac{1}{3}$ potřebného množství cholesterolu je přijímána potravou. Jedná se o exogenní cholesterol. Tato látka se nachází především v potravinách, které jsou živočišného původu např.: vajíčka, maso, vnitřnosti, živočišné tuky (sádlo, máslo) nebo mléko a sýr. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021); (www.bezpecnostpotravin.cz, on-line)

Cholesterol můžeme dělit na neesterifikovaný a esterifikovaný. Pokud mluvíme o cholesterolu "volném", bavíme se o cholesterolu neesterifikovaném. Naopak esterifikovaný cholesterol je nasycený vyššími mastnými nenasycenými kyselinami a z celkového cholesterolu zaujímá v plazmě $\frac{2}{3}$. (www1.lf1.cuni.cz, on-line)

Cholesterol je látka nepostradatelná pro náš organismus. Je součástí všech tělesných buněk, zajišťuje správné uspořádání membrán, stejně jako jejich funkci. Tento steroid je také prekurzorem jiných fyziologicky významných steroidních látek - hormonů (pohlavních, kůry nadledvin), vitamínu D nebo také žlučových kyselin. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

1.1.5 Lipoproteiny

Lipoproteiny jsou částice složené z tuků, které jsou navázány na bílkoviny. Takto vytvořené struktury slouží k transportu lipidů v organismu. Částice mají kulovitý tvar a v jejich středu jsou umístěny triacylglyceroly a neesterifikovaný cholesterol, což jsou tuky velmi obtížně rozpustné ve vodě. Naopak na povrchu lipoproteinových částic nacházíme polárnější lipidy, jako fosfolipidy nebo neesterifikovaný cholesterol. Krom lépe rozpustných lipidů, jsou na

povrchu částic také proteiny. Tyto bílkoviny nazýváme apoproteiny nebo apolipoproteiny a mezi jejich funkce řadíme transport lipidů v plazmě. Podílejí se také na tvorbě a přestavbě lipoproteinů nebo vazbě těchto částic na specifické receptory, čímž dochází k jejich odstranění z krevního řečiště. Lipoproteinové částice můžeme rozčlenit do pěti základních kategorií, které se mezi sebou odlišují velikostí a složením, což jsou proměnné, které mají vliv na jejich hustotu. Hustota lipoproteinové částice klesá, čím větší je její jádro složené z nepolárních lipidů. Mezi hlavní třídy lipoproteinů patří - chylomikrony, VLDL, IDL, LDL a HDL. Díky tomu, že tyto částice obsahují bílkoviny, lze je rozdělit pomocí elektroforézy. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Chylomikrony

Chylomikrony jsou lipoproteinové částice tvořené ve střevní mukóze. Jejich úkolem je transport tuků, které byly přijaty potravou, do lymfy a následně krevního oběhu. Jedná se o největší lipoproteinové částice, které mají zároveň také nejmenší hustotu. Jejich nízká hustota je způsobena vysokým podílem triacylglycerolů. Stejně jako ostatní lipoproteiny mají také bílkovinnou část. Pro chylomikrony jsou typické apoB-48, apoproteiny ze skupiny A nebo apoC a apoE. V krevním řečišti se chylomikrony setkávají s lipoproteinovou lipázou, která je schopná štěpit většinu triacylglycerolů. Látky vzniklé rozštěpením TAG, tj. glycerol (transportován do jater) a mastné kyseliny (lokální buněčný příjem), jsou dále využity. Produkty nachází uplatnění např. jako zdroj energie nebo prekurzory pro výrobu TAG. Po uplatnění účinku lipázy vznikají z chylomikronů malé částice, tj. chylomikronové zbytky, které jsou z krve odstraněny játry. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Přítomnost chylomikronů v krvi lze prokázat pomocí elektroforézy - zůstávají na startu nebo ultracentrifugací - zůstávají na povrchu. Jejich přítomnost v séru se projevuje mléčným (chylózním) zakalením. Za normálních okolností by naopak neměly být prokazatelné po dvanáctihodinovém lačnění. (Racek, Rajdl, 2021)

Lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL)

VLDL je lipoprotein, který vzniká v játrech. Jeho funkcí je transport endogenně tvořených lipidů (TAG) do periferní tkáně. K tomuto ději dochází, při zvýšeném příjmu výchozích substrátů (lipidy, glukóza, aminokyseliny) a slouží k transportu energie. Protože jsou VLDL částice lipoproteiny, obsahují také proteinové komponenty. Typickou bílkovinou složkou je apoB-100, dále však obsahují i apoE a v plazmě přijímají apoC a další apoE. Poslední dva

proteiny přejímají od HDL. Transferem bílkovinných komponent dochází společně s vlivem lipoproteinové lipázy k degradaci VLDL částic. Takto rozložené částice ztrácejí TAG a stávají se z nich lipoproteiny o střední hustotě, tedy IDL. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Lipoproteiny o střední hustotě (IDL)

IDL vznikají z degradovaných VLDL. Jedná se o částice, které mají při porovnání s VLDL zvýšený obsah cholesterolu, kvůli přenosu jejich esterů z HDL a hydrolýze TAG. Co se jejich metabolismu týče, jsou vycytávány v játrech a působením jaterní lipázy z nich vznikají LDL částice. IDL při tomto procesu ztrácí TAG i zbytky apoC a apoE. Pokud je narušen proces vycytávání těchto částic z krve, jedná se o faktor přispívající k rozvoji aterosklerózy. (Racek, Rajdl, 2021)

Lipoproteiny o nízké hustotě (LDL)

LDL vznikají degradací IDL. Patří mezi částice bohaté na cholesterol (a jeho estery) a je-li jejich hladina v krvi zvýšená, mají schopnost měnit cévní stěnu a podílejí se tak na rozvoji aterosklerózy. (Koolman, Röhm, 2012)

LDL lipoproteiny jsou velikostně menší a s větší hustotou než původní VLDL částice, jejichž postupnou degradací vznikají. Jejich funkcí je přenos cholesterolu a jeho následná distribuce do buněk. Ve středu těchto částic jsou umístěny především estery cholesterolu. Na jejich povrchu nacházíme fosfolipidy, apoB-100 a volný cholesterol. Proto, aby mohly být LDL částice odstraněny z krevního oběhu, mají svůj specifický LDL receptor. Jedná se o membránový protein složený z pěti domén. Princip jeho funkce je vazba na proteiny apoB-100 a apoE, ke kterým je tento receptor specifický a má velkou afinitu. Po navázání částice na receptor dojde ke vstupu komplexu do buňky, kde dochází k degradaci apoB-100 a využití cholesterolu. LDL-receptor se následně degraduje anebo naopak vystupuje opět k buněčné membráně, kde může navázat další LDL partikuli. Ve schopnosti recyklace receptoru, hraje svoji roli enzym PCSK9. Pokud dojde k jeho navázání společně s LDL částicí, vede k rozložení receptoru. Mutace spojené se zvýšenou produkcí tohoto enzymu, vedou ke vzniku hypercholesterolémie a naopak, pokud je enzym produkován méně, u nositelů zaznamenáváme hypocholesterolémii a snížený výskyt kardiovaskulárních onemocnění. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Příčinou vzniku aterosklerózy a dalších kardiovaskulárních nemocí je zvýšená hladina LDL částic v krvi. Partikule pak pronikají endotelem cév do subendotelového prostoru. V těchto místech jsou pohlceny makrofágy, které se usazují v cévách a tvoří tak základ aterosklerotických plátů. (Racek, Rajdl, 2021)

Lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL)

HDL částice jsou skupinou lipoproteinů, které mají nejmenší velikost a naopak největší hustotu. Vznikají v játrech a tenkém střevě. V jejich středu nacházíme cholesterol a jeho estery. Vnější vrstva obsahuje fosfolipidy, cholesterol ale i apoproteiny A-I, A-II, C-I, C-II, D a E. Jedná se o částice schopné přijímat fosfolipidy a cholesterol, který se nachází v cévních stěnách. Díky tomu, mění svoji velikost a tvar – zvětšují se a z diskovitých útvarů se stávají kulovité. Na tomto procesu se podílí enzym LCAT, jehož působením se přesouvá cholesterol z povrchu částic do jejich středu. (Koolman, Röhm, 2012); (Racek, Rajdl, 2021)

Lipoproteiny o vysoké hustotě jsou schopny tzv. reverzního transportu cholesterolu. To znamená, že se podílejí na snižování hladiny cholesterolu v krvi. Jedná se o partikule, které navazují jeho přebytečné množství a odvázejí ho do jater k metabolizaci. Tam se cholesterol mění na žlučové kyseliny, které jsou dále distribuovány do žluče. (Koolman, Röhm, 2012)

Reverzní transport je komplexní mechanismus, který má několik variant. Jeho cesta však vždy končí v játrech, kde se uplatňují specifické receptory, které částice vychytávají. V játrech nacházíme scavengerové receptory, které jsou schopny přímo vázat lipoproteiny o vysoké hustotě. Dále však máme i varianty, kdy je cholesterol z HDL přenášen do VLDL, IDL i LDL částic. VLDL a IDL lipoproteiny jsou pak v játrech navazovány na receptory pro apoB/E a LDL se vychytávají pomocí LDL-receptorů. (Racek, Rajdl, 2021)

Krom výše zmíněných pozitivních účinků mohou HDL lipoproteiny působit také antiagregačně, antioxidačně nebo protizánětlivě. Dále se také uvádí, že jejich zvýšená koncentrace v krvi, může být jedním z protektivních faktorů aterosklerózy. To však závisí na funkci těchto částic a není to pravidlem. (Racek, Rajdl, 2021)

1.2 Stanovení lipidů

Stanovení lipidů je důležitým vyšetřením, které má za úkol odhalit poruchy v jejich metabolismu. Ty pak mohou vést spolu s dalšími faktory ke vzniku různých onemocnění s možnými

fatálními důsledky. Stanovení hladin lipidů je krom diagnostiky důležité pro posouzení účinnosti léčby. Dle dosažených výsledků je rozhodováno také o intenzitě, v jaké bude léčba nasazena.

Krevní lipidy můžeme vyšetřovat metodami přímými a nepřímými. Rutinně se přímo stanovují hodnoty celkového cholesterolu, triglyceridů, HDL a LDL cholesterolu. Pokud ke stanovení využijeme metody nepřímé – hodnoty jsou vypočteny dle vzorců, do kterých dosazujeme vybrané naměřené hodnoty z lipidového panelu. Nepřímo lze získat hodnoty LDL cholesterolu, remnantního cholesterolu nebo non-HDL cholesterolu. Právě koncentrace non-HDL cholesterolu dobře předpovídá nebezpeční manifestace kardiovaskulárních příhod. (Soška, A Kol., 2017)

Proto, abychom získali správné výsledky, je nutné správně odebrat materiál. Stanovení se provádějí ze séra nebo plazmy. Aby nedošlo ke zkreslení výsledků, doporučuje se vhodný časový odstup od prodělané nemoci. Předmětem diskuzí však je, zda odebírat na lačno nebo bez lačnění. V České republice se lipidogram, pokud nejde o akutní stavy, stanovuje z materiálu odebraného na lačno. Odborná literatura však uvádí, že hodnoty získané bez lačnění jsou téměř shodné s hodnotami odebíranými na lačno. Uvádí se, že „běžná strava“ má vliv na hodnoty lipidů jen mírný. Pro odhad kardiovaskulárního rizika odběr na lačno není vůbec nutný. Důvodem proč se k odběrům na lačno v naší zemi nepřistoupilo, jsou omezení, která z tohoto postupu vyplývají. Společně se stanovením lipidů jsou obvykle pacienti odebíráni i kvůli jiným vyšetřením. Problémem jsou také chylomikra (vadí při výpočtových metodách), stejně jako vysoké hladiny TAG. Stanovení bez lačnění tak není vhodné např. pro diagnostiku hypertriglyceridemie. (Soška, A Kol., 2017); (Racek, Rajdl, 2021)

1.2.1 Stanovení triacylglycerolů

Stanovení hladiny triacylglycerolů je základním vyšetřením lipidového panelu, který referuje o koncentracích krevních lipidů. Indikací ke stanovení TAG může být např. odhalení dyslipidemií, které jsou typické pro diabetes mellitus 2. typu nebo metabolický syndrom. Tyto nemoci jsou charakteristické zvýšenou hladinou TAG. Synonymem pro zvýšené hodnoty vybočující z referenčního rozmezí je hyperglyceridémie. Užit však můžeme také pojmy jako triglyceridémie, hypertriacylglycerolémie nebo hypertriglyceridémie. Vyšetření triacylglycerolů, krom výše uvedených nemocí, může být indikováno na základě chylozity séra, popřípadě při abdominální obezitě, která může mít přímou spojitost s jejich vysokou hladinou

na lačno. Lze tak jednoduše diagnostikovat metabolický syndrom.

(www.internimedicina.cz, on-line)

Hypertriglyceridémie může být dvojího původu – primární (tj. na základě genetického podkladu), sekundární (tj. v důsledku nadměrného energetického příjmu) nebo smíšená (kombinací dvou dříve zmíněných). Pro zjištění primární triglyceridémie je nutno podstoupit vyšetření metodami molekulární biologie, která mohou odhalit její původ jako monogenní nebo polygenní defekt. Avšak pro správnou diagnostiku onemocnění je potřeba provést širokou paletu různých vyšetření. (www.internimedicina.cz, on-line)

Samotné stanovení hladiny triacylglycerolů se dnes provádí spektrofotometricky za využití enzymatických metod. Stanovení je zahájeno hydrolýzou, kterou následují reakce přeměňující glycerol na dihydroxyacetonfosfát. V průběhu reakce vzniká peroxid vodíku, který se následně stanovuje. (Racek, Rajdl, 2021)

Triacylglyceroly se stanovují v plazmě nebo séru. Odběr pro toto vyšetření by měl proběhnout ideálně po dvanáctihodinovém lačnění a pacient by také neměl až 48 hodin konzumovat alkohol. Před náběrem lze pít pouze vodu a užívat léky, které jsou nezbytně nutné. Kritériem pro odběr je také dostatečný odstup od lehčí (3 týdny) nebo vážnější nemoci (3 měsíce). Provádí se dva náběry v rozmezí jednoho až osmi týdnů a vyhodnocují se hodnoty obou odběrů. Stanovený výsledek se uvádí v mmol/l a referenční meze pro toto stanovení jsou: u dětí do jednoho roku 0,60-2,90 mmol/l, od jednoho roku do patnácti let se může hladina triglyceridů pohybovat v rozmezí 0,50 - 2,20 mmol/l a u pacientů starších patnácti let je referenční mez 0,45-1,70 mmol/l. Pokud je hladina triacylglycerolů v krvi nad referenčními hodnotami můžeme ji zařadit mezi samostatné rizikové faktory aterosklerózy. Při hodnotách TAG nad 10 mmol/l je rizikovým faktorem akutní pankreatidy. Výsledky tohoto vyšetření mohou být ovlivněny např. léky – kyselinou askorbovou, metamizolem nebo léčivým přípravkem ACC. Naopak falešná pozitivita může být způsobena stabilizátory emulzí nebo příměsí glycerolu. (Racek, Rajdl, 2021); (Soldin, A Kol., 2007); (Soška, Poledne, A Kol., 2010); (Franecková, A Kol., 2006); (Urbanová, A Kol., 2008)

1.2.2 Stanovení celkového cholesterolu

Stanovení celkového cholesterolu je zařazeno v základním lipidovém panelu. Jeho zvýšená hladina je rizikovým faktorem aterosklerózy. Pro to, aby mohlo dojít k analýze a vzorek nebyl znehodnocen, uplatňují se stejné podmínky odběru jako při stanovení hladiny triacylglycerolů. Celkový cholesterol se vyšetřuje v plazmě nebo séru, kdy doporučenou rutinní

metodou pro stanovení je enzymová metoda. Při ní dochází k hydrolýze esterů cholesterolu, působením cholesterolesterázy a dalších látek. Takto z esterů vznikají mastné kyseliny a cholesterol. Do dalších reakcí vstupuje cholesterol, který působením cholesteroxidázy, dává vzniknout peroxidu vodíku. Uvolněný peroxid se stanovuje Trinderovou reakcí, za vzniku barevného produktu. Ten se stanovuje spektrofotometricky, přičemž nárůst absorbance je přímo úměrný množství cholesterolu v analytu. Dalšími metodami jakými lze cholesterol stanovovat jsou – metoda dle Abell-Kendalla či metoda dle Liebermann-Burcharda. Tyto metody však nepatří mezi rutinní. (Dastych, Breinek, 2015)

Výsledek stanovení celkového cholesterolu se uvádí v mmol/l. Referenční meze pro děti a mladistvé jsou – děti mladší jednoho roku 1,00 - 5,60 mmol/l, děti od jednoho roku do 3 let 1,00 - 4,60 mmol/l a děti od 4 až mladiství do 15 let 2,10 - 4,30 mmol/l. Pro osoby starší patnácti let jsou referenční meze 2,90 až 5,00 mmol/l. Pokud hladina celkového cholesterolu přesáhne 5,00 mmol/l je u běžné populace zavedena hypolipidemická léčba. Pro posouzení závažnosti celkového stavu pacienta se však berou v potaz také hladiny HDL a LDL cholesterolu i další složky plazmy, které mohou mít aterogenní vliv. Naopak nízké koncentrace celkového cholesterolu nejsou příliš klinicky významné, mohou však doprovázet malnutrici nebo nadměrnou funkčnost štítné žlázy. (Racek, Rajdl, 2021); (Soldin, A Kol., 2007); (Soška, Poledne, A Kol., 2010); (Franeková, A Kol., 2006); (Urbanová, A Kol., 2008)

1.2.3 Stanovení HDL-cholesterolu

Stanovení HDL cholesterolu je dalším vyšetřením ze základního lipidového panelu. Stanovení se provádí z plazmy či séra a kritéria pro odběr vzorku jsou stejná jako pro předchozí stanovení. Pro určení hladiny HDL-cholesterolu máme různé metody například přímou imunoinhibiční metodu. Zde reaguje protilátka proti ApoB s LDL, VLDL, IDL a chylomikrony za vzniku imunokomplexu – antigen-protilátka. Takto jsou vyvázaný dříve uvedené lipoproteiny a nelze na ně navázat enzymy používané při stanovení. Při vyšetření se využívá enzymu cholesterolesteráza a dalších reagentů, jejichž úkolem je rozložit estery cholesterolu v HDL částicích, za vzniku cholesterolu a mastných kyselin. Dále se pak uplatňuje stejný postup jako při stanovení celkového cholesterolu. Výsledkem je barevný produkt, jehož absorbance je spektrofotometricky proměřována a její nárůst je přímo úměrný množství cholesterolu obsaženého v HDL částicích. (Dastych, Breinek, 2015); (Racek, Rajdl, 2021)

Stanovení může být přímé, viz výše zmíněný postup. Výsledky se opět uvádí v mmol/l a referenční hodnoty jsou - pro děti mladší patnácti let 1,0-2,1 mmol/l, pro ženy starší patnácti

let se interval pohybuje mezi 1,2 - 2,3 mmol/l a pro muže starší patnácti let je referenční rozmezí 1,0-2,1 mmol/l. Zvýšené i snížené hodnoty HDL-cholesterolu jsou podmíněny geneticky, avšak znatelný vliv na ně má i životní styl. Mezi další možnosti jak stanovit HDL-cholesterol patří také metoda s maskováním non-HDL částic nebo metody precipitační či elektroforetické. Dále se na výsledkovém listu objevuje non-HDL cholesterol. Jedná se o hodnotu uváděnou v mmol/l. Výsledku je dosaženo odečtením hodnot HDL-cholesterolu od celkového cholesterolu. Výsledek pak ukazuje cholesterol, který se nachází v lipoproteinech s aterogenním účinkem. Referenční hodnoty jsou určovány dle hodnot kardiovaskulárního rizika, které je rozděleno do skupin - nízké, středně zvýšené, vysoké, velmi vysoké a extrémní. Cílová hodnota klesá dle závažnosti rizika a to - od nízkého rizika a hodnot do 3,8 mmol/l až do extrémního rizika a hodnot do 1,8 mmol/l. Hodnota non-HDL cholesterolu se využívá ke sledování účinnosti terapie a k zhodnocení tíže aterogenních dyslipiemií. (Dastyh, Breinek, 2015); (Soldin, A Kol., 2007); (Soška, Poledne, A Kol., 2010); (Franeková, A Kol., 2006); (Urbanová, A Kol., 2008); (Vráblík, A Kol., 2019)

1.2.4 Stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou

LDL-cholesterol je dalším z lipoproteinů základního lipidového panelu. Lze ho stanovit z plazmy nebo séra a kritéria pro odběr materiálu jsou stejná jako u dříve zmíněných. Jedná se o lipoprotein, jehož hodnoty vedou k zahájení hypolipidemické léčby a také ke sledování její účinnosti. Referenční meze jsou uváděny dle věku následovně – do tří měsíců se uvádí rozmezí 0,40-2,50 mmol/l, od 3 měsíců do patnácti let se referenční meze pohybují mezi 1,20 až 2,60 mmol/l a u osob starších patnácti let od 1,20 do 3,00 mmol/. (Soldin, A Kol., 2007); (Soška, Poledne, A Kol., 2010); (Franeková, A Kol., 2006); (Urbanová, A Kol., 2008); (Vráblík, A Kol., 2019)

Ke stanovení hladin LDL-cholesterolu v krvi můžeme použít metody přímé a nepřímé. Mezi přímé rutinní metody patří - metody s maskováním non-LDL částic a metody s odstraněním non-LDL částic. Pokud při stanovení dochází k maskování non-LDL částic, využívají se specifická činidla, která mají za úkol zamaskovat VLDL partikule a chylomikrony. Dále dochází k odstranění HDL lipoproteinů a další stanovení LDL-cholesterolu probíhá za přítomnosti enzymů. Postup je totožný jako při stanovení cholesterolu. Pokud se LDL-cholesterol stanovuje druhou metodou, non-LDL částice se rozloží. Jedná se o dvoustupňový proces, kdy se v prvním kroku rozloží non-LDL částice a v druhém se stanoví množství LDL-cholesterolu stejnou metodou jako cholesterol. Na konci stanovení měříme absorbanci. Dal-

šími přímými metodami mohou být - turbidimetrické metody, které jsou založeny na precipitaci a dnes se již nevyužívají. Dále můžeme LDL-cholesterol stanovovat pomocí elektroforézy, při které se využívá enzymů a denzitometrického měření. (Dastych, Breinek, 2015)

Krom přímého stanovení můžeme hodnoty LDL-cholesterolu určit také pomocí výpočtů, pak se jedná o metody nepřímé. Nejčastěji využívaným výpočtem je ten dle Friedewalda. K získání výsledků potřebujeme hodnoty celkového cholesterolu, triacylglycerolů a HDL-cholesterolu. LDL-cholesterol získáme odečtením HDL-cholesterolu a triacylglycerolů (vydělených 2,2) od celkového cholesterolu. Hodnoty, se kterými operujeme při výpočtu, musí být v mmol/l. Dalším omezením je koncentrace triacylglycerolů. Pokud je ve zkoumaném analytu vyšší než 4,5 mmol/l a zároveň v přítomnosti chylomikronů, nelze ji použít pro výpočet. (Dastych, Breinek, 2015)

Pokud bychom porovnali metody přímé a nepřímé, dle studie probíhající v Plzni roku 2017, výsledky obou metod ovlivňovala koncentrace triacylglycerolů a to již od hodnot vyšších než 1 mmol/l. To je způsobeno složením lipoproteinů v kombinaci s užívanou farmakoterapií, výživou, genetickou predispozicí a komorbiditami pacienta. Proto je velice náročné vyrobít diagnostický kit pro přímou metodu s odpovídající specifitou. Přímé metody dobře fungují u zdravé populace. Zvyšující se koncentrace triacylglycerolů, pak snižovala hodnoty získané pomocí nepřímé metody. K významnému rozdílu docházelo při koncentracích triacylglycerolů přesahujících 3 mmol/l. Poroto se u pacientů s hypertriglyceridemií upřednostňuje stanovení přímé v kombinaci se stanovením koncentrace apolipoproteinu B. (www.synlabianer.cz, on-line); (Miller, A Kol., 2010)

1.3 Dyslipidémie a jejich charakteristika

Dyslipidémie společně s hyperlipoproteinémiemi řadíme mezi metabolická onemocnění. Pro tyto choroby jsou typické zvýšené hladiny lipoproteinů a lipidů v plazmě, případně jejich patologické aterogenní složení. Můžeme je dělit dle různých kritérií, přičemž se jedná o významné rizikové faktory, které přispívají ke vzniku kardiovaskulárních nemocí. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Dyslipidémie nebo také dyslipoproteinémie jsou onemocnění, charakteristická zvýšenými hladinami cholesterolu, TAG a/nebo sníženou koncentrací HDL-cholesterolu. Zvýšené a snížené koncentrace se mohou vyskytovat samostatně nebo v kombinaci. Pokud mluvíme o hyperlipoproteinémii jinak také hyperlipidémii, jedná se o odchylku, pro kterou jsou typické

zvýšení koncentrace cholesterolu a TAG (samostatně, ale také v kombinaci). Je to však porucha, která nebere v potaz, že mezi defekty lipidového spektra patří i snížená koncentrace HDL-cholesterolu, která má vliv na rozvoj aterosklerózy. (Racek, Rajdl, 2021)

1.3.1 Klasifikace dyslipidemií

Dyslipidemií, dělíme je dle dvou hledisek a to laboratorního nálezu a příčiny vzniku tj. etiopatogeneze. Mezi dyslipidémie dělené dle laboratorního nálezu patří izolovaná hypercholesterolemie (charakteristická zvýšenou hladinou celkového cholesterolu s TAG hodnotami v referenčním rozmezí), izolovaná hypertriacylglycerolemie (se zvýšenou hladinou TAG společně s fyziologickými koncentracemi cholesterolu) a smíšená hyperlipidémie (typická zvýšenou hladinou cholesterolu i TAG). Dále do této skupiny můžeme zařadit také izolovanou sníženou hladinu HDL-cholesterolu. Je to však marker, který se ojediněle vyskytuje samostatně, obvykle ho vidáme v kombinaci s výše zmíněnými druhy dyslipidemií. Druhou kategorií je dělení dyslipidemií podle etiopatogeneze. Sem řadíme primární, sekundární a smíšené dyslipidémie. (Racek, Rajdl, 2021)

Obecně můžeme říci, že HLP a DLP jsou onemocnění způsobena abnormální syntézou nebo naopak poruchou odstraňování lipoproteinů z plazmy. Primárně podmíněné DLP jsou podmíněné geneticky. Mezi významné zástupce této DLP patří například familiární (primární) hypercholesterolemie. Jedná se o autozomálně dominantní chorobu, která se projevuje poruchou spojenou s LDL-receptorem, který není schopen navazovat LDL lipoproteiny z krevního řečiště. Defekt tohoto receptoru může mít několik příčin – porucha v genu pro tento receptor, defekt v genu pro apoB-100 (apolipoprotein, který se váže na LDL-receptor) a mutace v genu pro PCSK-9 (klíčová role v zániku LDL-receptorů). Výše uvedené mechanismy, krom poruchy v genu pro apoB-100 (působí defekt v LDL částici), vedou ke snížení počtu LDL-receptorů, což má za následek kumulaci LDL-cholesterolu v krevním řečišti. Vysoká koncentrace těchto částic v krvi však nekoreluje s dostatkem cholesterolu v buňkách – může tedy docházet k jeho endogenní syntéze. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020); (Racek, Rajdl, 2021)

Mezi další zástupce primárních DLP řadíme – polygenní hypercholesterolemii nebo familiární kombinovanou hyperlipidémii. Pro polygenní hypercholesterolemii je typická zvýšená koncentrace cholesterolu v krvi a k jejímu vzniku dochází v důsledku kombinací genetických ale i zevních faktorů. Nejedná se tedy o čistě primární dyslipidémii. Familiární kombinovaná hyperlipidémie je pravděpodobně nejčastější geneticky podmíněnou HLP. Mutace

v důsledku této nemoci mají vliv na apo B-100, VLDL i aterogenní LDL, u kterých zvyšují produkci. Pro tuto nemoc jsou typické zvýšené hodnoty apo B-100, cholesterolu a triacylglycerolů. Tímto výčtem zástupci primárních DLP nekončí. Dále rozeznáváme například familiární hyperchylomikronémie, hypertriacylglycerolémie a dysbetalipoproteinémie. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Dále rozeznáváme dyslipidémie sekundární. Jedná se o DLP, způsobené v důsledku jiného (původního) onemocnění, které má schopnost ovlivňovat metabolismus lipidů. Takovými nemocemi mohou být např. hypotyreóza nebo diabetes. Pokud je kompenzována původní choroba, ovlivňována je také DLP. I přestože dochází ke zlepšení, hodnoty krevních lipidů se již nemusí vrátit do referenčních mezí. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Posledním typem dyslipidemií jsou DLP smíšené etiologie. Příčinnou jejich vzniku je kombinace primárních a sekundárních příčin tj. genetických mutací a vlivů zevního prostředí, kde velkou roli hraje především nezdravý životní styl. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020);

1.3.2 Diagnostika a screening dyslipidemií

Identifikace dyslipidemií se provádí na podkladě biochemického vyšetření krve (ze séra či plazmy), kdy můžeme stanovovat základní a rozšířený lipidový panel. V základním lipidovém panelu najdeme hodnoty ze stanovení – triacylglycerolů, celkového cholesterolu, LDL a HDL cholesterolu. Rozšířený lipidový panel obsahuje stanovení apolipoproteinů a lipoproteinu (a). Tento marker není závislý na metabolismu lipidů. Jedná se ale o významný rizikový faktor ischemické choroby srdeční a jeho zvýšené koncentrace obvykle iniciují zahájení agresivnější léčby. Do rozšířeného lipidového panelu patří také stanovení apolipoproteinů apoA-I a apoB. Výše zmíněná biochemická vyšetření řadíme mezi základní a podrobné informace o jednotlivých metodách jsou uvedeny v kapitole věnující se stanovení lipidů. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020); (Racek, Rajdl, 2021)

V diagnostice můžeme využít také specializované metody. Mezi ty patří stanovení kvalitativních vlastností lipoproteinů, u kterých určujeme jejich velikost a denzitu. Trendem poslední doby se stává diagnostika „malých denzních LDL částic“, jejichž zvýšená koncentrace je charakteristická pro pacienty s metabolickým syndromem.

(Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Výše uvedená diagnostika je indikována u pacientů trpících kardiovaskulárními onemocněními a u osob s pozitivní rodinou anamnézou. Dále se lipidové panely stanovují u pacientů s diabetem druhého typu a s metabolickým syndromem. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Kromě stanovení u pacientů s již diagnostikovaným onemocněním se provádí také populační a selektivní screening. Preventivní populační screening se vyšetřuje u dospělých osob a probíhá v kompetenci praktických lékařů, kteří indikují vyšetření základního lipidového panelu. U pacientů, u kterých se diagnostikuje DLP a kteří pro ni nejsou léčeni, dochází k opakovaní měření v rozmezí jednoho až dvanácti týdnů při stejném životním stylu. Důvodem je variabilita v hladinách TAG, které ovlivňují i další hodnoty. Selektivní screening se provádí především u dětských pacientů, přičemž indikací ke stanovení lipidogramu je pozitivní rodinná anamnéza související s KVO a DLP rodičů. (Racek, Rajdl, 2021)

1.3.3 Léčba dyslipidemií

Léčba dyslipidemií je důležitou prevencí KVO. Skládá se ze dvou základních prvků a to léčby – farmakologické a nefarmakologické. Nefarmakologická léčba se zahajuje u všech nemocných s DLP a je základem terapie. Jedná se o soubor zdravých prospěšných opatření, mezi které patří dieta, zvýšení fyzické aktivity, snížení hmotnosti nebo ukončení kouření. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Vhodný způsob stravování, by měl být vlastní celé populaci. Zvláště je na něj však kladen důraz při léčbě DLP, kdy podle jejího druhu je zvoleno vhodné dietní opatření. Při zvýšeném cholesterolu je vhodné omezit příjem nasycených tuků živočišného původu a zvýšit příjem vlákniny. U zvýšených triglyceridů je žádoucí omezit příjem alkoholu, jednoduchých cukrů i nasycených tuků atd. Obecné rady však vycházejí z diety, kterou doporučuje americká kardiologická společnost. Ta doporučuje u nemocných trpících nadváhou nebo obezitou, snížit kalorický příjem a tak redukovat váhu. Pacient by měl věnovat pozornost procentu a druhu tuků přijímaných v potravě. Zároveň se také doporučuje zvýšit obsah vlákniny nebo vitamínů, u kterých se předpokládá, že mají antioxidační účinek. Doporučení se také týkají příjmu soli, konzumace alkoholu a dalších. S tím samozřejmě souvisí režimová opatření zabývající se pohybovou aktivitou. Pohyb by měl být úměrný věku a zdravotnímu stavu nemocného, přičemž by měl být pro pacienta (ideálně) příjemný. Při cvičení by měl postižený dosáhnout asi 60 až 70 % z tepové frekvence pro svůj věk, což má pravděpodobně preventivní vliv na snížení kardiovaskulárního rizika. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Mezi další nefarmakologická opatření patří omezení, nebo ideálně ukončení kouření. To u kuřáků zvyšuje hodnoty volných mastných kyselin v důsledku aktivace sympatiku. Dochází tak k usnadnění lipolýzy a následnému zvýšení koncentrace volných mastných kyselin. Uvádí se, že kouření až čtyřikrát zvyšuje kardiovaskulární riziko, které společně s DLP souvisejícími s hypertenzí nebo například inzulínovou rezistencí, urychluje rozvoj aterosklerózy. To vše hraje roli ve vzniku akutních koronárních příhod. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Příznivý vliv na DLP mají také doplňky stravy. Vhodnými doplňky jsou např. ty s obsahem rostlinných sterolů, které zabraňují vstřebávání cholesterolu ze střev. Pozitivní vliv má také červená rýže s efektem připodobňovaným ke statinům. Dále se v rámci diety doporučuje konzumace sóji, zelených čajů nebo berberinu. Některé z těchto uvedených suplementů mohou být kombinovány s klasickou farmakoterapií, avšak nemohou ji plně zastoupit. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Léčba farmakologická se stejně jako výše uvedené postupy a suplementy soustředí na snížení hladin LDL cholesterolu, což vede k nižšímu výskytu kardiovaskulárních příhod a s nimi spojené mortalitě. Mezi základní léky snižující koncentraci LDL cholesterolu v krvi patří statiny. Jsou základem hypolipidemické léčby. Jedná se o revoluční léky využívané v preventivní kardiologii a jejich příkladem může být atorvastatin nebo rosuvastatin. Přestože se obecně jedná o bezpečné léky s dobrou tolerancí, i u této skupiny léčiv se mohou vyskytovat nežádoucí účinky, jako např. myopatie nebo rozvoj diabetu druhého typu u starších pacientů. Mezi významné léky v hypolipidemické terapii řadíme také ezetimib. Jedná se o selektivní inhibitor, který blokuje absorpci cholesterolu v buňkách intestinální mukózy. Ezetimib využíváme v kombinaci se statiny. Samostatně by mohl způsobit zvýšenou syntézu cholesterolu játry a jeho účinek na snížení LDL-cholesterolu je poměrně malý. Tento kombinovaný způsob léčby je nazýván také duální inhibicí. K farmakoterapii lze pak také využít monoklonální protilátky proti PCSK9, případně fibráty. Vhodná farmakoterapie však závisí na typu DLP. (Češka, Herber, Prokeš, Vráblík, 2021), (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Pacienty u kterých byla zavedena farmakologická léčba je potřeba monitorovat. Doporučeným postupem je stanovení lipidogramu. Ten se po zahájení léčby stanovuje zpravidla v rozmezí osmi až dvanácti týdnů. Pokud pacient reaguje na léčbu kladně a dochází k snížení hodnot, případně k dosažení těch cílových, stačí provádět kontroly jednou za šest až dvanáct měsíců, za předpokladu, že nedojde k výskytu nežádoucích účinků. (Racek, Rajdl, 2021)

2 ATEROSKLERÓZA

Ateroskleróza a její komplikace je významným zdravotním problémem, který má přímou souvislost s mortalitou v rámci kardiovaskulárních onemocnění. Nejedná se však o problém poplatný pouze pro dnešní dobu. Morfologické změny typické pro tuto chorobu jsme byli schopni zaznamenat již na egyptských mumiích a jejím zkoumáním se zabývaly i takové osobnosti, jako byl například Leonadro da Vinci. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Původ toho pojmu pochází z řeckého „atheros“ a latinského „skleros“, což ve volném překladu znamená kašovitý a tvrdý. Tato slova odkazují na původ aterosklerózy v hromadění lipidů v cévní stěně s jejich následnou kalcifikací působením vápníku. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

2.1 Etiologie a patogeneze aterosklerózy

Ateroskleróza je onemocnění postihující především velké a středně velké tepny, jako koronární a hrudní arterie nebo tepny, které jsou součástí Willisova okruhu. Příčinu vzniku vysvětlují dvě teorie – zánětlivá a inkrustační. Jedná se o kombinaci chronického zánětu, který postihuje velké tepny společně s nadměrným ukládáním tuků. Na počátku aterosklerotického procesu je endoteliální dysfunkce, která je způsobena – nadměrným vstupem lipoproteinových LDL částic do cévní stěny. Tyto partikule způsobují patologické změny, které spolu s působením imunitního systému poškozují endotel. V důsledku tohoto mechanismu vzniká aterosklerotická léze, obsahující makrofágy, lymfocyty, buňky cévní svaloviny a drť krystalů volného cholesterolu. Aterosklerotický plát je překryt endotelem a proces vstupu a následné ukládání lipoproteinových částic pokračuje dál. Krom modifikovaných LDL částic se na tomto ději mohou podílet také remnantní lipoproteiny, které mají schopnost aterosklerózu uspíšit. Na endoteliálním poškození se však podílí také proudění krve vlivem hypertenze stejně jako vlivy metabolické, chemické, imunitní nebo např. degenerativní. Celý proces aterogeneze je úzce spjat se zánětem. Hodnoty zánětlivých markerů, jako CRP, sérový amyloid A nebo interleukin 6 se využívají k určení prognózy u akutního koronárního syndromu. Nachází své využití také pro posouzení rizika u jiných pacientů trpících aterosklerózou. K tomu, krom výše zmíněných, slouží tumor necrosis factor alfa, fibrinogen nebo selektiny P a E. (Češka, 2012); (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020); (Táborský, A Kol. 2021)

Dle patologicko-anatomického ohledu můžeme rozdělit aterosklerózu na tři druhy: časné léze, ateromové a fibrózní pláty a léze komplikované. Tukové proužky spadají do kategorie časných lézí a můžeme je zaznamenat již u novorozenců. Jedná se o druh aterosklerózy, který se pravděpodobně vyskytuje u celé populace. Proužky nacházíme především ve velkých cévách, kde jsou umístěny v intimě, přičemž se nijak významně nepodílejí na zúžení průsvitu cév a nemají tak ani vliv na průtok krve. Léze obsahují pěnové buňky. Ty mohou vznikat z makrofágů nebo svalových buněk, které obsahují estery cholesterolu. Mohou však také obsahovat T-lymfocyty. Časné léze nejsou absolutně stabilní, mohou zanikat, ale také se vyvíjet v další druhy aterosklerotických plátů. Krom výše uvedených rozeznáváme také ateromy nebo fibrózní pláty. Jedná se o ložiska prominující do lumina cév a obsahující svalové buňky, makrofágy a lymfocyty. Makrofágy a svalové buňky jsou v různém stádiu přeměny v pěnové buňky, přičemž obsahují vysoké množství lipidových vakuol. Elementy jsou zasazeny v ložiskách tvořených lipidy a kolagenní matrix. Tak se tvoří ostře ohraničené léze, tužší až chrupavčité konzistence, které prominují do lumina cév a tak ovlivňují nebo dokonce zastavují průtok krve. Ateromy mohou nekrotizovat a v důsledku toho podléhat kalcifikaci. Jedná se o předstupeň komplikovaných lézí. Ty vznikají právě z kalcifikovaných ateromů. Vliv na jejich vznik mají také degenerativní změny jako ulcerace nebo ruptury, díky kterým na léze mohou přilnout trombocyty. Ty dávají vzniknout trombózám, které jsou důvodem uzavírajícím cévy. Tento proces probíhá velmi rychle.

(Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020); (Češka, 2012)

Pláty vyskytující se v cévách dělíme dále na stabilní a nestabilní. Pro stabilní pláty je charakteristická nízká náchylnost k ruptuře a zároveň nízký obsah lipidů. Naopak nestabilní pláty s vysokým obsahem tuků jsou náchylné k ruptuře. Dávají vzniknout trombům, které se následně manifestují akutními cévními příhodami. (Češka, 2012)

2.2 Význam aterosklerózy

Jak již bylo výše popsáno, ateroskleróza je velmi závažné chronické onemocnění a jedná se o primární příčinu kardiovaskulárních nemocí v mnoha zemích vyspělého světa, Českou republiku nevyjímaje. Naše populace spadá do kategorie vysokého rizika dle SCORE systému. K negativní prognóze společně s aterosklerózou přispívají i její rizikové faktory, které dohromady s touto chorobou tvoří komplexní a významný zdravotní problém. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020); (Vráblík, A Kol., 2019)

Významnou roli také v průběhu aterosklerózy hraje zánět, který doprovází celý její průběh a je příčinou mechanismů vedoucích k manifestaci akutního koronárního syndromu. Tento syndrom je způsoben vazokonstrikcí společně s tvorbou trombu v místě aterosklerotického plátu. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020);

Ateroskleróza je onemocnění, které se manifestuje, zúžením průsvitu cév, případně jejich úplnou obstrukcí. Samotné aterosklerotické léze jsou místem, kde dochází k adhezi trombocytů, jejich následnému shlukování a tvorbě trombu. Sama trombóza je pak příčinou, která vede k rychlému uzavření cévy. Tyto akutní příhody jsou způsobeny vlivem nestabilních plátů, v jejichž důsledku může dojít k akutnímu koronárnímu syndromu. Stabilní aterosklerotické léze dávají vzniknout námahovým stenokardiím, které jsou důsledkem zúženého průsvitu cév. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Ateroskleróza je také pojem, který je úzce spjat s kardiovaskulárním rizikem. Toto riziko je definováno jako pravděpodobnost manifestace fatální nebo nefatální kardiovaskulární příhody za jednotku času. K vyhodnocení rizika se využívají různé systémy, kdy nejhojněji aplikovaným je systém SCORE. Jedná se o systém, který predikuje vznik první fatální kardiovaskulární příhody v horizontu deseti let. Kardiovaskulární příhoda je pak taková situace, která je způsobená uzávěrem cévy v důsledku trombu. Příkladem může být infarkt myokardu nebo cévní mozková příhoda. SCORE systém je přehlednou soustavou tabulek, které dělí riziko kardiovaskulárních příhod do následujících kategorií – nízké, střední, vysoké a velmi vysoké. Kritéria pro každou kategorii jsou velmi specifická, kdy pro správné zařazení pacientů využíváme např. vyšetření kalciového skóre nebo využití duplexního ultrazvukového vyšetření u koronárních, karotických nebo femorálních tepen. Pokud je diagnostikován aterosklerotický plát, pacient se zařazuje do kategorie velmi vysokého kardiovaskulárního rizika. (www.kardiologickarevue.cz, on-line); (Vráblík, A Kol., 2019)

2.3 Rizikové faktory aterosklerózy

Rizikový faktor je veličina, která zvyšuje pravděpodobnost vzniku rozvoje nebo nepříznivého průběhu choroby. RF můžeme dělit na neovlivnitelné a ovlivnitelné. Jedná se o významnou veličinu podílející se na celkovém kardiovaskulárním riziku, které jsme schopni odhadnout. Tyto hodnoty jsou pak velmi důležité pro diagnostické a léčebné účely. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

2.3.1 Hlavní neovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy

Mezi hlavní rizikové faktory, které nelze ovlivnit, řadíme: věk, pohlaví, genetické faktory a osobní anamnézu (prodělání KV příhody). Protože je ateroskleróza proces, který se vyvíjí velmi dlouho, se zvyšujícím se věkem vzrůstá riziko projevu ischemických chorob srdečních. Věk, kdy se může ICHS manifestovat, je úzce spjat s pohlavím. Muži jsou rizikovější skupinou než ženy. Estrogeny u ženského pohlaví mají protektivní účinky, což má za následek vyšší hladiny HDL lipoproteinových částic v krvi. Tento vliv však pomíjí v období menopauzy. Vliv genetických faktorů je také nezanedbatelný. Z pohledu rodinné anamnézy se za pozitivní rizikové faktory považuje: výskyt IM/náhla smrt u otce/prvostupňového příbuzného do 55 let u mužů a 60 let u žen. V některých zdrojích se uvádí také vliv rasy. Posledním RF je osobní anamnéza se vztahem ke kardiovaskulárním onemocněním, kde je zásadní projev aterosklerózy v krevním řečišti, která se může nacházet kdekoliv. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

2.3.2 Hlavní ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy

Hlavní ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy jsou takové, kterým můžeme předejít správnou životosprávou, dostatečným množstvím pohybu nebo farmakoterapií. Řadíme mezi ně dyslipidémie, kouření, hypertenzi, DM druhého typu, obezitu, metabolický syndrom a desítky dalších. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Dyslipidémie a jejich vliv na aterosklerózu byl již popsán výše. Dalším RF je kouření, které výrazně zvyšuje náchylnost k ischemickým chorobám srdečním. K významnému snížení rizika dochází už po několika měsících od jeho zanechání. Tento RF se nevztahuje pouze na „klasické“ cigarety, ale také na elektronické nebo přípravky zahřívající tabák. Jedním ze tří nejvýznamnějších faktorů s vlivem na kardiovaskulární choroby je také arteriální hypertenze. Ta má vliv na prevalenci cévních mozkových příhod a srdečních selhání. O arteriální hypertenzi se jedná, pokud má pacient v ordinaci lékaře hodnoty krevního tlaku vyšší než 140/90 mm Hg. S předčasným projevem aterosklerózy je spojen také diabetes mellitus druhého typu. Tato nemoc se manifestuje rezistencí k inzulinu, hyperinzulinismem nebo porušenou glukózovou tolerancí. S chorobou úzce souvisí také poruchy metabolismu lipidů, hypertenze, obezita aj. Právě obezita, především centrálního (abdominálního) typu, je samostatný RF, úzce spojený s jinými. Vysoké hodnoty abdominálního tuku jsou samostatným kardiovaskulárním rizikem úzce souvisejícím s metabolickým syndromem. Tento syndrom se u pacientů velmi často vyskytuje v kombinaci s DLP, diabetem druhého typu, hypertenzí nebo výše zmíněnou obezitou. Krom doprovodných nemocí trpí také pacienti poškozením

cílových orgánů. Při léčbě se využívají nefarmakologické postupy v kombinaci s léky blokujícími systém RAA nebo látkami ze skupiny BBK aj. Využití farmak však záleží na konkrétní situaci a typu přidruženého onemocnění. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

Zvláštní, avšak významnou skupinou hlavních ovlivnitelných RF jsou nové, nebo také moderní faktory. Do této skupiny řadíme např. zvýšené hladiny CRP (diskutabilní, slouží spíše jako jeden z markerů), vysoké koncentrace fibrinogenu v séru nebo hodnoty lipoproteinu (a). Vliv na vznik ischemických chorob srdečních má však také nízký socioekonomický status. (Češka, Štulc, Tesař, Lukáš, 2020)

PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

Cílem této práce je porovnat a vyhodnotit data získaná z měření probíhajícího na ÚKBH FN Plzeň v říjnu 2020.

Před samotným zhodnocením dat bylo mým úkolem nastudovat tematiku související s lipidy a to týkající se nejen jejich metabolismu, ale i stanovení nebo patologií, které s nimi souvisejí. Informace pro teoretickou část práce, jsem získávala z odborných materiálů, jejichž zdrojem byly knihy, články a i informace dostupné z internetu. Všechny tyto zdroje jsou pak řádně citovány v textu a uvedeny v seznamu použité literatury.

3.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem této práce je porovnat a vyhodnotit, zda se hodnoty LDL-cholesterolu měřeného přímou metodou a vypočteného budou lišit u podskupin pacientů s různou hladinou HDL-cholesterolu.

3.2 Dílčí cíle

1. Dílčím cílem je pokud se budou hodnoty LDL-cholesterolu lišit, pokusit se zhodnotit a identifikovat jak silný je vliv HDL-cholesterolu na rozdíl mezi získanými výsledky.
2. Dílčím cílem této práce je také seznámit se s metodami a přístrojovým vybavením, pomocí kterých se stanovují hladiny krevních lipidů.

4 VÝZKUMNÉ OTÁZKY

Výzkumná otázka číslo 1: Ovlivňuje HDL-cholesterol rozdíl mezi výsledky LDL-cholesterolu získanými přímým měřením a výpočtem?

Výzkumná otázka číslo 2: Jsou významné rozdíly mezi oběma způsoby stanovení? V případě, že ano, čím jsou způsobené.

5 METODIKA PRÁCE A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ

Výsledky pro tuto práci byly získány sérií měření, která probíhala na modulovém analyzátoru Cobas® 8000 od firmy Roche. Tento analyzátor je schopen za použití specifických laboratorních kitů stanovit hladiny lipidů v krevním séru a plazmě. V této práci šlo především o stanovení koncentrace celkového cholesterolu, triacylglycerolů, cholesterolu HDL a LDL. Hodnoty celkového cholesterolu, triacylglycerolů a HDL-cholesterolu byly využity při určení LDL-cholesterolu nepřímou metodou, tj. výpočtem dle Friedewaldovy rovnice.

Pro dosažení validních výsledků bylo potřeba dodržet správnou preanalytickou fázi, která je popsána v kapitole (1.2), zabývající se stanoveními. Analyzátor je schopen stanovit hodnoty krevních lipidů z lidského séra nebo plazmy ve zkumavkách s heparinem nebo K₃-EDTA. Stabilita materiálu se pak pohybuje 7 dní při teplotě 2-8 °C. Při teplotě 15–25 °C je analyt stabilní 24h. Principem prováděných testů je enzymatické stanovení za vzniku barevného produktu, který se následně měří fotometricky. Toto diagnostické stanovení je samozřejmě designováno pouze pro použití in vitro.

5.1 Přímé stanovení LDL-cholesterolu

Přímé stanovení LDL-C je kvantitativní in vitro test, který je schopen stanovit koncentraci LDL-C v lidském séru nebo plazmě. Tato metoda využívá selektivního rozpouštění LDL-C v micelách, kterého je docíleno neionogenním detergentem a interakcí lipoproteinů a cukerných složek. Jedná se o homogenní enzymatickou metodu, stanovovanou fotometricky. Principem testu je využití enzymů – cholesteroloxidázy a cholesterolsterázy, jež jsou schopny za přítomnosti surfaktantů selektivně rozpustit LDL-C. Tyto enzymy však mohou reagovat i s jinými lipoproteiny, čemuž je zabráněno přítomností surfaktantů a cukerných složek. Proto nedojde ke stanovení cholesterolu v HDL, VLDL a chylomikronech. Postupná degradace esterů cholesterolu vede ke vzniku peroxidu vodíku, který společně s dalšími reagensii tvoří rudo-fialové zabarvení, jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci analytu v séru nebo plazmě. (Roche Diagnostics, 2022)

Komerčně vyráběný kit je určen pro analyzátor Cobas® 8000 a stanovení probíhá v modulu cobas c 701/702. Intenzita zabarvení konečného produktu je měřena při vlnové délce 700/600 nm a výsledek v mmol/l je získán na základně dvoubodového end point stanovení. (Roche Diagnostics, 2022)

Kit obsahuje 2 sady pracovních roztoků tj. R1 a R3, které obsahují následující reagenty (Roche Diagnostics, 2022):

R1:

Bis(2-hydroxyetyl)-amino-tris-(hydroxymetyl)-metan 20.1 mmol/l, pH 7.0

4-aminoantipyrin: 0.98 mmol/l

Asorbát oxidáza (AOD, *Acremonium spec.*): $\geq 66.7 \mu\text{kat/l}$

Peroxidáza (rekombinantní z *Basidiomycetes*): $\geq 166.7 \mu\text{kat/l}$

BSA: 4.0 g/l

konzervans

R3:

3-morfolinpropan-1-sulfonová kyselina 20.1 mmol/l

EMSE: 2.16 mmol/l

Cholesterolesteráza (*Pseudomonas spec.*): $\geq 33.3 \mu\text{kat/l}$

Cholesteroxidáza (rekombinantní z *E. coli*): $\geq 31.7 \mu\text{kat/l}$

Peroxidáza (rekombinantní z *Basidiomycetes*): $\geq 333.3 \mu\text{kat/l}$

BSA: 4.0 g/l

Detergent

Konzervans

Vliv na konečný výsledek mohou mít také interference analytu s různými látkami např. bilirubinem, léčivý aj. viz příložená tabulka. Pro správné vyhodnocení je proto nutné zhodnotit celkovou anamnézu pacienta spolu s klinickými nálezy a dalšími vyšetřeními. (Roche Diagnostics, 2022)

Tabulka 1 Interference pro přímé stanovení LDL-C (Roche Diagnostics, 2022)

Ikterus	Bez významných interakcí do hodnot konjugovaného a nekonjugovaného bilirubinu 1026 $\mu\text{mol/l}$
Hemolýza	Bez významných interakcí do koncentrace hemoglobinu 621 $\mu\text{mol/l}$
Léčiva	Běžný panel léků v terapeutických dávkách bez interakcí

N-acetylcystein	Antidotum při intoxikaci acetaminofenem – falešně nízké výsledky LDL-C
Kyselina askorbová	Bez významných interakcí do do koncentrace 28,4 mmol/l

5.2 Nepřímé stanovení LDL-cholesterolu

Nepřímé stanovení LDL-C je metoda, která využívá výpočtu, který je znám také pod názvem Friedewaldova rovnice. K získání hodnot z níže uvedeného vztahu potřebujeme znát hodnoty celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triacylglycerolů. Tento výpočet má své omezení v koncentraci TG, která musí být nižší než 4,5 mmol/l.

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{celkový cholesterol} - \text{HDL-cholesterol} - \text{TG}/2,2$$

Dále budou popsány principy stanovení analytů potřebných pro výše uvedený výpočet. Stanovení HDL-C bude rozepsáno samostatně.

5.2.1 Přímé stanovení celkového cholesterolu

Přímé stanovení celkového cholesterolu je enzymatická metoda, jejíž výsledek je stanovován fotometricky. Principem této metody je štěpní esterů cholesterolu na volný cholesterol a mastné kyseliny. Následně dochází k oxidaci cholesterolu enzymem cholesteroloxidáza za vzniku cholest-4-en-3-on a peroxid vodíku. Peroxid vodíku pak v přítomnosti peroxidázy, fenolu a 4-aminoantipyrinu napomáhá vzniku červeného chinon-imonového zbarvení, jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci cholesterolu. Při této metodě se měří nárůst absorbance při vlnových délkách 700/505 nm, přičemž se jedná o jednobodovou metodu, která udává výsledek v mmol/l. Komerčně vyráběný kit je designován pro analyzátor Cobas® 8000 a stanovení probíhá v modulu cobas c 701/702. (Roche Diagnostics, 2022)

Kit obsahuje jednu sadu pracovních roztoků – R1, ve které jsou obsaženy následující reagenty (Roche Diagnostics, 2022):

Pufr PIPES: 225 mmol/l, pH 6.8

Mg²⁺: 10 mmol/l

Cholát sodný: 0.6 mmol/l

4-aminoantipyrin: ≥ 0.45 mmol/l

Fenol: ≥ 12.6 mmol/l

Polyglykoléter mastného alkoholu: 3%

Cholesterolesteráza (*Pseudomonas spec.*): $\geq 25 \mu\text{kat/l}$ ($\geq 1.5 \text{ U/ml}$)

Cholesterol oxidáza (*E. coli*): $\geq 7.5 \mu\text{kat/l}$ ($\geq 0.45 \text{ U/ml}$)

Peroxidáza (křenová): $\geq 12.5 \mu\text{kat/l}$ ($\geq 0.75 \text{ U/ml}$)

Stabilizátory

Konzervans

Interference, které by mohly ovlivnit výsledek, jsou shodné jako pro přímé stanovení LDL-cholesterolu. (Roche Diagnostics, 2022)

5.2.2 Přímé stanovení triacylglycerolů

Přímé stanovení triacylglycerolů je kvantitativní in vitro enzymatický test, který se stanovuje fotometricky. Tento postup vychází z prací Wahlenfelda. Principem tohoto stanovení je hydrolýza TAG pomocí lipoproteinové lipázy za vzniku glycerolu. Ten následně vstupuje do další reakce společně s ATP, kde přispěním glycerol kinázy vzniká glycerol-3 fosfát. Tento produkt je degradován na peroxid vodíku, který spolu s 4-aminofenazonem a 4-chlorofenolem za přítomnosti peroxidázy dává vzniknout červenému zbarvení produktu. Intenzita výsledného zbarvení je přímo úměrná koncentraci triglyceridů v plazmě nebo séru. Absorbance produktu je měřena při vlnových délkách 700/505 nm jednobodovým měřením, které udává výsledek v mmol/l. Komerčně vyráběný kit je designován pro analyzátor Cobas® 8000 a stanovení probíhá v modulu cobas c 701/702. (Roche Diagnostics, 2022)

Kit obsahuje jednu sadu pracovních roztoků – R1, ve které jsou obsaženy následující reagensie (Roche Diagnostics, 2022):

PIPES pufr: 50 mmol/l, pH 6.8

Mg²⁺: 40 mmol/l

Cholát sodný: 0.20 mmol/l

ATP: $\geq 1.4 \text{ mmol/l}$

4-aminofenazon: $\geq 0.13 \text{ mmol/l}$

4-chlorofenol: 4.7 mmol/l

Lipoproteinlipáza (*Pseudomonas spec.*): $\geq 83 \mu\text{kat/l}$

Glycerolkináza (*Bacillus stearothermophilus*): $\geq 3 \mu\text{kat/l}$

Glycerolfosfát oxidáza (*E. coli*): $\geq 41 \mu\text{kat/L}$; peroxidáza (křenová): $\geq 1.6 \mu\text{kat/l}$

Konzervans

Stabilizátory

Co se interferencí týče, je tato metoda lehce náchylnější. Pro ikterus dochází k významnějším interferencím po překročení hodnot: pro kojugovaný bilirubin 274 $\mu\text{mol/l}$ a nekojugo- vaný bilirubin 239 $\mu\text{mol/l}$. V případě hemolýzy může dojít k interferenci po překročení koncentrace hemoglobinu 435 $\mu\text{mol/l}$. Další interference jsou shodné s předchozími stanoveními. (Roche Diagnostics, 2022)

5.3 Přímé stanovení HDL-cholesterolu

Přímé stanovení HDL-cholesterolu je kvantitativní in vitro test, který je schopen fotometricky stanovit hodnoty tohoto analytu v lidském séru nebo plazmě. Principem tohoto testu je také homogenní enzymatické stanovení. Tato metoda využívá polyaniontů a detergentu k navázání LDL, VLDL a chylomikronů, které vytvoří ve vodě rozpustný komplex. Díky tomuto komplexu je pouze HDL-C schopen reagovat s příslušnými enzymy, kterými jsou cholesterolesteráza a cholesteroxidáza. Cholesterol je pomocí cholesterolesterázy štěpen na volný cholesterol a mastné kyseliny. HDL-C je následně v přítomnosti kyslíku oxidován cholesteroxidázou za vzniku peroxidu vodíku. Ten vstupuje do další reakce společně s 4-amino-antipyrin a N-etyl-N-(3-metylfenyl)-N'-sukcinyletylenediaminem, které dávají vzniknout barevnému produktu. Intenzita zabarvení je pak přímo úměrná koncentraci cholesterolu. Měření absorbance probíhá při vlnových délkách 700/600 nm a výsledek v mmol/l je získán na základě dvoubodového end point stanovení. (Roche Diagnostics, 2020)

Komerčně vyráběný kit pro analyzátor Cobas® 8000 určený pro modul cobas c 701/702 obsahuje 2 sady pracovních roztoků tj. R1 a R3, které obsahují následující reagenty (Roche Diagnostics, 2020):

R1:

2-Hydroxy-N-tris(hydroxymethyl)methyl-3-aminopropanesulfonová kyselina 62.1 mmol/l, pH 7.77

Polyanion: 1.25 g/l

EMSE: 1.08 mmol/l

Askorbát oxidáza (tykev): $\geq 50 \mu\text{kat/l}$

Peroxidáza (křen): $\geq 166.7 \mu\text{kat/l}$

Detergent

BSA: 2.0 g/l

Konzervans

R3:

Bis(2-hydroxyetyl)iminotris(hydroxymetyl)metan 20.1 mmol/l, pH 6.70

Cholesterolesteráza (mikroorganismy): $\geq 7.5 \mu\text{kat/l}$

Cholesteroxidáza (rekombinantní z E. coli): $\geq 7.17 \mu\text{kat/l}$

Cholesteroxidáza (mikroorganismy): $\geq 76.7 \mu\text{kat/l}$

Peroxidáza (křenová): $\geq 333 \mu\text{kat/l}$

4-amino-antipyrin: 1.48 mmol/l

BSA: 3.0 g/l

Detergent

Konzervans

Interference jsou téměř shodné s popsány u stanovení LDL-C přímou metodou. Hodnoty pro ikterus zůstávají zachovány. Při hemolýze nedochází k interferenci až od koncentrace hemoglobinu vyšší než 745 $\mu\text{mol/l}$. Falešně pozitivní výsledky může způsobit také zvýšená koncentrace volných mastných kyselin a denaturovaných proteinů. Je také uváděno, že kyselina askorbová neinterferuje až do hodnot 2,84 mmol/l. (Roche Diagnostics, 2020)

5.4 Přístrojové vybavení

Pro stanovení výše uvedených analytů byl použit přístroj Cobas® 8000. Jedná se o modulární biochemický analyzátor, určený pro analýzu krve a moče in vitro. Tento stroj je schopen automaticky a samostatně vykonávat operace jako transport vzorku, reagensí, jejich míchání a další. V závislosti na modulu je také schopen provádět stanovení kvalitativní i kvantitativní založená na biochemických a imunochemických principech.

Tento analyzátor je vytvořen kombinací hardwarových a softwarových částí, které jsou spolu propojeny. Hardwarovou část tvoří řídicí a core jednotka spojená s dalšími volitelnými moduly. Softwarová část si udržuje kontrolu nad všemi moduly a o jejich stavu informuje za využití grafického uživatelského rozhraní, pomocí kterého je možno přístroj dále ovládat. Software je také schopen automaticky odečíst, případně vypočítat koncentraci stanovovaných analytů. Výsledky jsou kontrolovány personálem, kdy po jejich schválení jsou přeneseny do LIS.

6 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Během října v roce 2020 proběhl ve Fakultní nemocnici v Plzni výzkum, jehož cílem bylo zjistit, zda se hodnoty LDL-cholesterolu získaného přímo (měřením) a nepřímo (výpočtem) budou lišit. V případě rozdílu mezi získanými hodnotami bylo cílem zjistit zda, případně jak moc, má na tyto výsledky vliv koncentrace HDL-cholesterolu. Sběr dat proběhl během zavádění přímého stanovení LDL-cholesterolu na Ústavu klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice Plzeň.

Koncentrace lipidů v krvi se stanovovala u 120 pacientů. 91 pacientů ze zkoumaného souboru bylo vybráno náhodně. Zbýlých 29 pacientů bylo zařazeno do souboru, kvůli patologicky sníženým nebo naopak zvýšeným hodnotám HDL-cholesterolu. Ve sledovaném souboru se nacházelo 60 žen ve věku od 8 do 97 let. Mužů bylo také 60 ve věkovém rozmezí od 12 do 86 let.

U výše zmíněných pacientů došlo k vyšetření lipidogramu, který obsahoval stanovení celkového cholesterolu, triacylglycerolů, HDL cholesterolu a LDL cholesterolu (stanovovaného přímou a nepřímou metodou). Anonymní data byla zanesena do excelových tabulek. Pro lepší přehlednost a vyhodnocení výsledků jsem pacienty rozdělila do tří skupin dle koncentrace HDL-cholesterolu: HDL-C 0-0,99 mol/l, HDL-C od 1,0-1,99 mmol/l a HDL-C 2,0 mmol/l a vyšší.

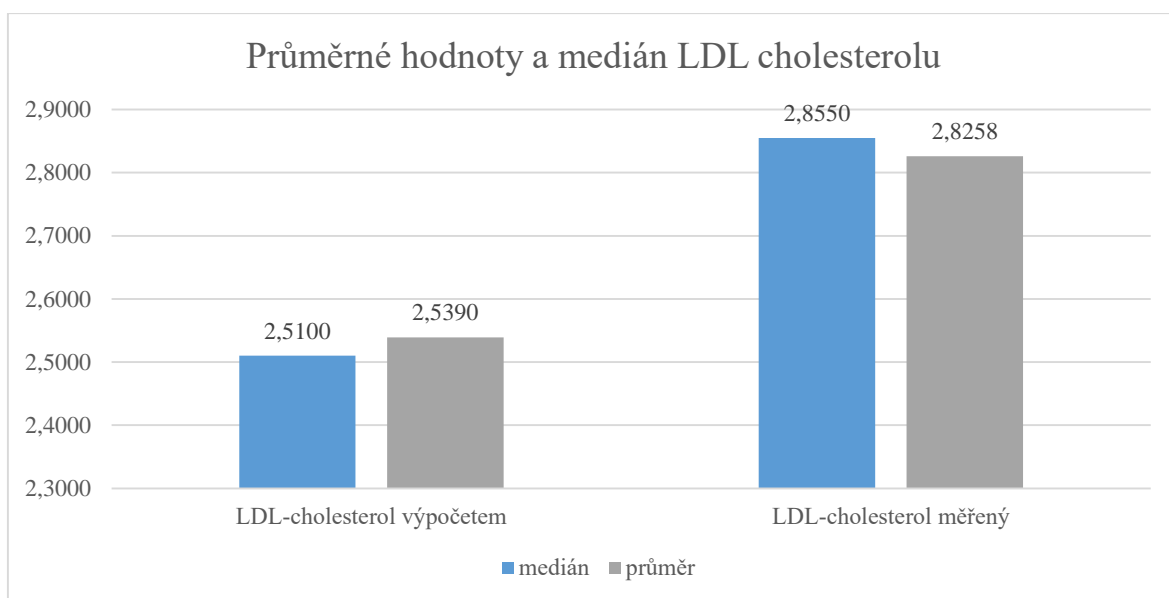
Skupina HDL-C pro hodnoty pohybující se v intervalu 0-0,99 mmol/l obsahuje celkem 40 pacientů z toho 29 mužů (13-86 let) a 11 žen (8-76 let). Ve skupině s HDL-C 1,0-1,99 mmol/l je celkem 41 osob. Jedná se o 19 mužů (24-83 let) a 22 žen (14-84 let). Poslední skupinou jsou pacienti s hodnotami HDL-C 2,0 mmol/l a vyššími. Tento soubor obsahuje dohromady 39 pacientů a to 12 mužů (12-73 let) a 27 žen (10-93 let).

7 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Na začátku vyhodnocení jsem porovнала hodnoty LDL-cholesterolu stanovené přímou a nepřímou metodou u všech 120 pacientů zařazených do sledování. Tímto porovnáním jsem chtěla zjistit, zda se budou hodnoty lišit a pokud dojde k rozdílu, chtěla jsem se zabývat tím, jaké faktory na to mohou mít vliv.

Průměrná koncentrace LDL-cholesterolu přímým měřením je $2,8256 \pm 1,0554$ mmol/l a medián je 2,8550 mmol/l. Průměrná koncentrace pro hodnoty cholesterolu získané výpočtem je $2,5390 \pm 1,1058$ mmol/l a medián je 2,5100 mmol/l. Pro lepší znázornění rozdílu, jsem data vložila do grafu č. 1. Hodnoty LDL cholesterolu získané nepřímou metodou jsou nižší oproti hodnotám stanoveným přímo ($p=0,015$), korelační koeficient obou metod je 0,9608.

Graf 1 Porovnání průměrných hodnot a mediánů LDL-cholesterolu stanoveného přímou a nepřímou metodou



V tabulce č. 2 jsou uvedeny korelace mezi hodnotami všech výsledků. Nižší uvedené korelace jsou získány metodou dle Pearsona v MS Excel a jejich významnost stoupá, čím více se blíží k hodnotám 1 a -1. Takové výsledky jsou zvýrazněny červeně.

Tabulka 2 Korelace hodnot měřených veličin ve skupině všech pacientů

	Věk	Pohlaví	Chol	TG	HDL-C	LDL výpo- četem	LDL přímo	ΔLDL- C
Věk	1	-0,0277	-0,1387	-0,0479	-0,0861	-0,1127	-0,1044	-0,0114
Pohlaví	-0,0277	1	0,1969	-0,1413	0,3137	0,1126	0,1277	-0,0728
Chol	-0,1387	0,1969	1	-0,0664	0,6957	0,9175	0,9296	-0,1946
TG	-0,0479	-0,1413	-0,0664	1	-0,4579	-0,1611	-0,1071	-0,1681
HDL-C	-0,0861	0,3137	0,6957	-0,4579	1	0,4534	0,5079	-0,2708
LDL-výpo- četem	-0,1127	0,1126	0,9175	-0,1611	0,4534	1	0,9608	-0,023
LDL- přímo	-0,1044	0,1277	0,9296	-0,1071	0,5079	0,9608	1	-0,2993
ΔLDL-C	-0,0114	-0,0728	-0,1946	-0,1681	-0,2708	-0,023	-0,2993	1

Tabulka č. 2 referuje o významné korelaci mezi celkovým cholesterolem (chol) a LDL-C získaným výpočtem i přímo. Korelační koeficient celkového cholesterolu a LDL-C získaného výpočtem je 0,9175. Korelační koeficient mezi LDL-C měřeným a celkovým cholesterolem je 0,9296. Významnou korelaci zaznamenáváme také mezi LDL-C měřeným přímo a vypočteným. Korelační koeficient obou metod je 0,9608. Méně významnou přesto důležitou korelaci máme mezi celkovým cholesterolem a HDL-C a také mezi HDL-C a přímo získaným LDL-C. Korelační koeficient referující o vztahu celkového cholesterolu a HDL-C je 0,6957. Pro vztah mezi HDL-C a získaným LDL-C je korelační koeficient 0,5079. Z tabulky také vyplývá, že věk ve vztahu k ostatním proměnným nemá žádné korelace.

Dále budou uvedeny a zhodnoceny výsledky z tabulek, které zkoumaný soubor pacientů dělí dle hodnot HDL-cholesterolu do 3 skupin: HDL-C od 0-0,99 mmol/l, HDL-C 1,0-1,99 mmol/l a HDL-C 2,0 mmol/l vyšší.

Tabulka 3 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 0,0-0,99 mmol/l

Pohlaví	Věk	Celk. cholesterol (mmol/l)	Triacylglyceroly (mmol/l)	HDL-C (mmol/l)	LDL-C výpočet (mmol/l)	LDL-C měřený (mmol/l)
žena	57	2,74	3,25	0,23	1,03	0,13
muž	75	1,82	2,27	0,41	0,38	0,20
žena	58	2,94	0,76	0,55	2,04	0,88
muž	68	2,36	1,46	0,98	0,72	1,04
muž	52	2,59	0,89	0,89	1,3	1,04
muž	58	2,57	0,91	0,99	1,17	1,11
žena	49	3,3	3,51	0,58	1,12	1,25
žena	49	2,69	3,11	0,54	0,74	1,36
muž	35	3,29	4,39	0,88	0,41	1,46
muž	81	2,93	1,62	0,78	1,41	1,48
žena	56	3,07	1,82	0,74	1,5	1,50
muž	85	2,98	1,81	0,89	1,27	1,64
muž	64	3,03	1,01	0,86	1,71	1,66
muž	60	3,3	2,97	0,61	1,34	1,76
muž	42	3,4	3,22	0,78	1,16	1,78
žena	54	3,42	1,16	0,96	1,93	1,99
žena	72	4,21	2,86	0,78	2,13	2,00
muž	48	3,98	2,82	0,69	2,01	2,09
muž	86	3,11	1,03	0,65	1,99	2,17
muž	72	4,06	2,32	0,6	2,41	2,18
muž	61	3,98	1,44	0,92	2,41	2,49
žena	13	3,77	1,58	0,96	2,09	2,50
muž	57	4,25	1,43	0,97	2,63	2,53
muž	52	4,56	3,1	0,81	2,34	2,53
muž	65	3,82	1,05	0,83	2,51	2,56
muž	71	4,49	3,25	0,84	2,17	2,62
muž	69	3,77	1,61	0,91	2,13	2,65
muž	13	4,04	1,33	0,78	2,66	2,79
muž	53	4,53	3,57	0,86	2,05	2,91
muž	53	5,61	3,01	0,8	3,44	2,95
muž	24	5,41	4,13	0,95	2,58	3,02
muž	15	4,27	1,47	0,96	2,64	3,08
žena	43	4,29	0,83	0,91	3	3,15
muž	86	4,96	3,33	0,63	2,82	3,18
muž	73	4,68	1,27	0,7	3,4	3,20
muž	51	4,93	2,41	0,86	2,97	3,24
žena	76	4,82	0,94	0,99	3,4	3,38
muž	46	5,29	2,51	0,79	3,36	3,46
žena	8	5,15	2,5	0,92	3,09	3,69
muž	55	6,43	3,83	0,79	3,9	4,33

Tabulka 4 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 1,0-1,99 mmol/l

Pohlaví	Věk	Celk. cholesterol (mmol/l)	Triacylglyceroly (mmol/l)	HDL-C (mmol/l)	LDL-C výpočet (mmol/l)	LDL-C měřený (mmol/l)
muž	77	2,18	0,83	1,13	0,67	0,82
muž	54	2,86	2,42	1,14	0,62	0,87
muž	24	2,42	0,58	1,16	1,00	1,20
žena	79	3,11	0,90	1,59	1,11	1,41
muž	83	2,92	1,01	1,34	1,12	1,42
žena	41	3,23	1,03	1,19	1,57	1,89
žena	67	3,91	2,25	1,57	1,32	2,02
muž	70	4,05	1,61	1,69	1,63	2,06
žena	62	4,24	1,66	1,53	1,96	2,18
žena	51	4,26	2,75	1,00	2,01	2,24
žena	64	4,48	2,02	1,70	1,86	2,26
žena	61	4,11	1,66	1,41	1,95	2,47
muž	34	4,03	0,83	1,60	2,05	2,50
muž	66	4,06	1,14	1,35	2,19	2,56
žena	84	4,73	1,47	1,73	2,33	2,58
muž	82	4,25	1,60	1,42	2,10	2,66
muž	69	4,37	1,30	1,46	2,32	2,70
muž	77	4,72	1,49	1,90	2,14	2,71
žena	38	4,40	1,66	1,24	2,41	2,72
žena	66	4,40	1,98	1,16	2,34	2,82
žena	69	5,07	3,27	1,22	2,36	2,85
muž	61	4,58	0,67	1,77	2,51	2,87
žena	64	4,99	1,59	1,91	2,36	2,87
muž	68	4,34	2,01	1,02	2,41	2,94
žena	52	4,58	1,15	1,49	2,57	2,96
muž	46	4,62	1,53	1,15	2,77	2,98
muž	63	4,55	0,97	1,30	2,81	3,03
žena	14	4,62	1,00	1,44	2,73	3,08
muž	46	5,05	1,76	1,46	2,79	3,18
žena	40	5,07	1,44	1,49	2,93	3,19
muž	33	4,87	0,96	1,56	2,87	3,36
žena	36	4,95	0,87	1,40	3,15	3,46
žena	53	5,28	1,03	1,58	3,23	3,46
muž	67	5,09	1,44	1,53	2,91	3,47
žena	36	4,93	0,96	1,63	2,86	3,48
žena	55	5,21	1,35	1,47	3,13	3,59
žena	45	5,16	1,39	1,38	3,15	3,70
žena	18	5,37	1,50	1,32	3,37	3,93
muž	71	5,35	1,34	1,43	3,31	4,03
muž	47	5,67	1,54	1,17	3,80	4,20
žena	55	6,13	1,83	1,32	3,98	4,44

Tabulka 5 Pacienti s koncentrací HDL-cholesterolu 2,0 mmol/l a více

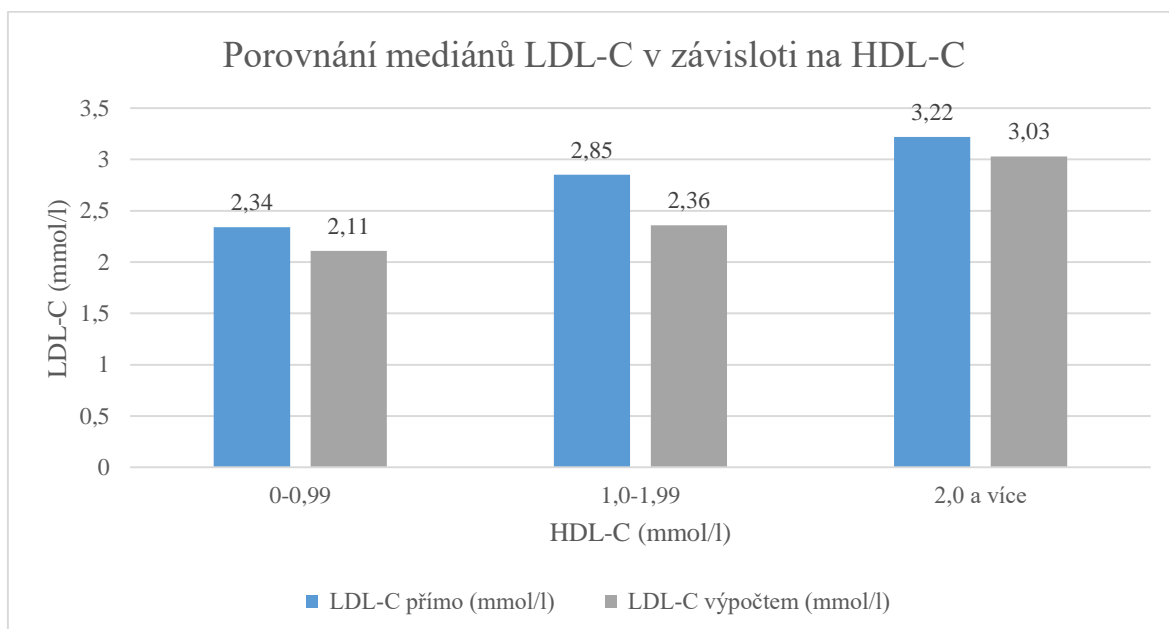
Pohlaví	Věk	Celk. cholesterol (mmol/l)	Triacylglyceroly (mmol/l)	HDL-C (mmol/l)	LDL-C výpočet (mmol/l)	LDL-C měřený (mmol/l)
žena	26	3,71	0,50	2,17	1,31	1,63
žena	80	3,75	1,15	2,23	1,00	1,65
žena	70	5,21	0,62	2,73	2,20	2,24
muž	58	4,79	0,83	2,08	2,33	2,41
žena	13	4,26	0,61	2,23	1,75	2,47
žena	33	5,62	1,59	2,40	2,50	2,60
žena	73	4,68	0,81	2,02	2,29	2,62
muž	43	4,85	1,14	2,01	2,32	2,73
žena	45	5,16	0,58	2,25	2,65	2,76
žena	69	5,35	2,00	2,48	1,96	2,78
žena	44	5,69	0,69	2,69	2,69	2,84
muž	39	5,25	1,12	2,04	2,70	2,86
žena	46	5,52	1,21	2,36	2,61	2,86
žena	93	5,40	1,53	2,07	2,63	2,95
žena	60	5,37	1,19	2,02	2,81	2,96
muž	65	5,40	0,61	2,04	3,08	3,06
muž	53	5,15	0,80	2,11	2,68	3,09
muž	57	5,78	2,51	2,01	2,63	3,14
žena	97	6,03	1,16	3,06	2,44	3,18
žena	67	5,37	0,80	2,24	2,77	3,22
žena	63	6,22	1,75	2,21	3,21	3,38
muž	73	5,80	0,48	2,06	3,52	3,52
muž	33	7,35	1,01	3,54	3,35	3,52
žena	38	5,82	1,24	2,23	3,03	3,54
žena	72	5,99	1,44	2,18	3,16	3,62
žena	47	6,17	1,14	2,05	3,60	3,67
muž	43	6,33	1,25	2,07	3,69	3,69
žena	73	5,89	1,04	2,19	3,23	3,89
žena	82	6,09	1,26	2,17	3,35	3,89
žena	10	7,95	0,79	3,74	3,85	4,14
žena	92	6,68	0,70	2,09	4,27	4,20
žena	66	7,24	2,03	2,37	3,95	4,24
muž	52	6,73	1,20	2,14	4,04	4,27
žena	47	6,85	0,70	2,12	4,41	4,46
muž	46	8,16	1,18	3,12	4,50	4,88
žena	66	7,29	1,75	2,22	4,27	4,92
žena	59	8,02	0,88	2,13	5,49	5,91
žena	66	9,69	3,26	2,92	5,29	5,97
muž	12	10,01	1,50	2,27	7,06	7,20

Tabulka 6 Porovnání mediánů LDL-cholesterolu v závislosti na HDL-cholesterolu

HDL-C (mmol/l)	LDL-C přímo (mmol/l)	LDL-C výpočtem (mmol/l)
0-0,99	2,34	2,11
1,0-1,99	2,85	2,36
2,0 a více	3,22	3,03

V tabulce č. 6 jsou zaneseny mediány koncentrací LDL-cholesterolu. Mediány byly spočteny pro přímé i nepřímé stanovení LDL-cholesterolu dle skupiny HDL-cholesterolu. Pro lepší znázornění rozdílů mezi přímým a nepřímým stanovením jsem vybrala následující graf č. 2.

Graf 2 Porovnání mediánů LDL-cholesterolu výpočtem a měřením v závislosti na HDL-cholesterolu

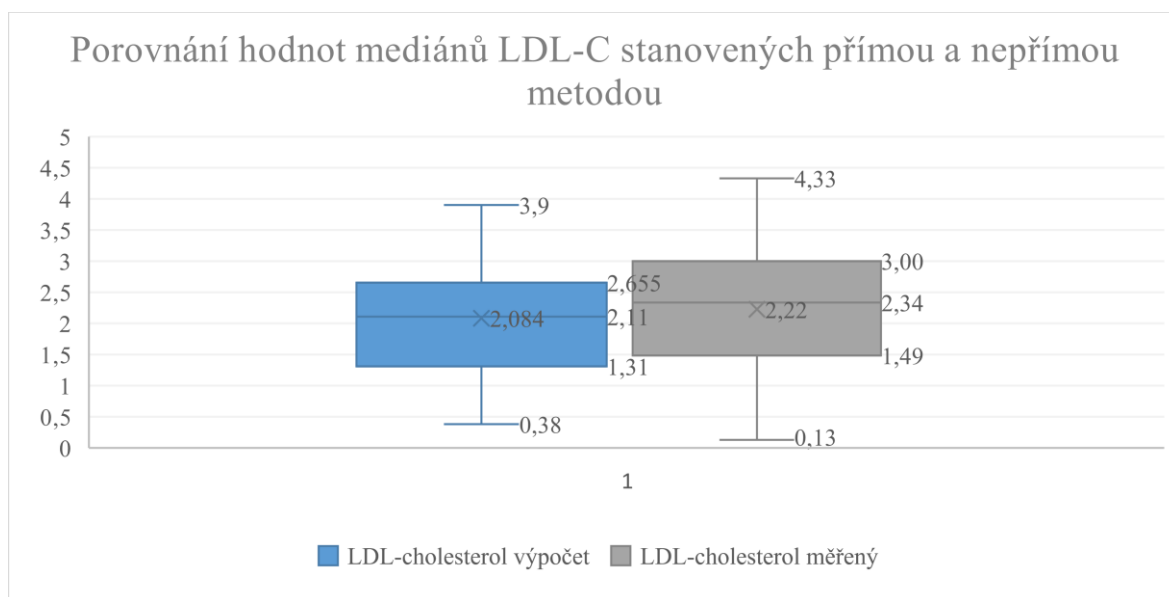


Tabulka 7 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-cholesterolem 0-0,99 mmol/l

	Věk	Pohlaví	Chol	TG	HDL-C	LDL výpočetem	LDL přímo	Δ LDL-C
Věk	1	-0,267	-0,2459	-0,3584	-0,1687	-0,0549	-0,1452	0,2149
Pohlaví	-0,267	1	-0,1224	-0,0987	-0,174	-0,0543	-0,1567	0,2426
Chol	-0,2459	-0,1224	1	0,3444	0,301	0,8925	0,9204	-0,2002
TG	-0,3584	-0,0987	0,3444	1	-0,2895	-0,0874	0,1001	-0,4157
HDL-C	-0,1687	-0,174	0,301	-0,2895	1	0,3049	0,4719	-0,4286
LDL-výpočetem	-0,0549	-0,0543	0,8925	-0,0874	0,3049	1	0,9	0,0759
LDL-přímo	-0,1452	-0,1567	0,9204	0,1001	0,4719	0,9	1	-0,3662
Δ LDL-C	0,2149	0,2426	-0,2002	-0,4157	-0,4286	0,0759	-0,3662	1

Tabulka č. 7 informuje o velmi významné korelaci mezi celkovým cholesterolem a LDL-C vypočteným (korelační koeficient 0,8925) i měřeným (korelační koeficient 0,9204). Mezi významné korelace v tabulce patří korelace mezi TG a Δ LDL-C (rozdíl mezi LDL-C měřeným a vypočteným), kdy je jejich korelační koeficient -0,4157. Významnou korelaci zaznamenáváme také mezi HDL-C a LDL-C měřeným (korelační koeficient 0,4719) a Δ LDL-C (korelační koeficient -0,4286).

Graf 3 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 0-0,99 mmol/l



V krabicovém grafu č. 3 jsem porovnala mediány hodnot LDL-C vypočteného a měřeného. Z grafu lze vyčíst, že medián pro nepřímou metodu je 2,11 mmol/l. Nejvyšší vypočtenou hodnotou LDL-C je 3,9 mmol/l, nejnižší naopak 0,38 mmol/l. Průměr (značený křížkem)

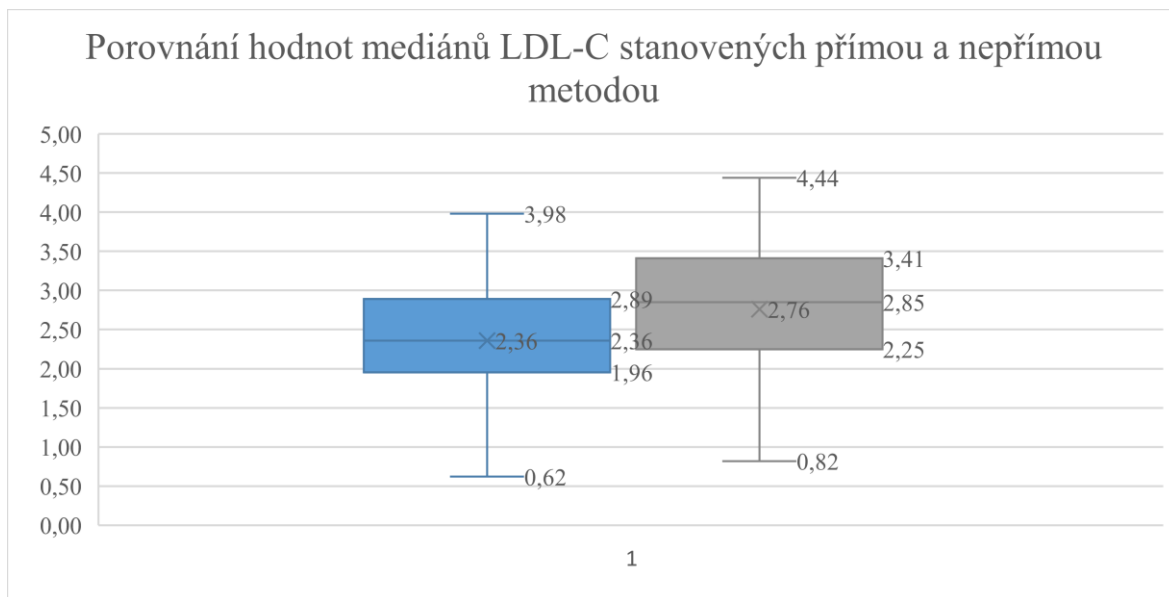
pro nepřímou získané hodnoty LDL-C v této skupině je 2,084 mmol/l. Pro LDL-C měřený je medián 2,34 mmol/l. Nejvyšší naměřenou koncentrací je 4,33 mmol/l a naopak nejmenší 1,49 mmol/l. Průměr měřeného cholesterolu v této skupině je 2,22 mmol/l. Rozdíl mezi mediány LDL-C je 9,8 %.

Tabulka 8 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-C 0,99-1,99 mmol/l

	Věk	Pohlaví	Chol	TG	HDL-C	LDL výpočetem	LDL přímo	Δ LDL-C
Věk	1	-0,0815	-0,0754	0,2115	0,1632	-0,1945	-0,145	-0,2179
Pohlaví	-0,0815	1	0,2596	0,2379	0,102	0,1744	0,1681	-0,0304
Chol	-0,0754	0,2596	1	0,1908	0,2542	0,9407	0,952	-0,4327
TG	0,2115	0,2379	0,1908	1	-0,2708	-0,0384	0,0005	-0,2157
HDL-C	0,1632	0,102	0,2542	-0,2708	1	0,0776	0,1227	-0,2972
LDL-výpočetem	-0,1945	0,1744	0,9407	-0,0384	0,0776	1	0,9871	-0,3118
LDL-přímo	-0,145	0,1681	0,952	0,0005	0,1227	0,9871	1	-0,4601
Δ LDL-C	-0,2179	-0,0304	-0,4327	-0,2157	-0,2972	-0,3118	-0,4601	1

Tabulka č. 9 referuje o významné korelaci mezi celkovým cholesterolem a LDL stanoveným přímo i výpočtem. Korelační koeficient celkového cholesterolu a LDL-C získaného výpočtem je 0,9407. Mezi celkovým cholesterolem a LDL-C přímo měřeným je korelační koeficient 0,952. Celkový cholesterol má také vliv na Δ LDL-C (rozdíl mezi LDL-C měřeným a vypočteným) o čemž referuje korelační koeficient s hodnotou - 0,4327. Tabulka uvádí také korelaci mezi LDL-C získaným výpočtem a LDL-C měřeným (0,9871). LDL-C vypočtený má pak vliv na Δ LDL-C, přičemž korelační koeficient mezi uvedenými je - 0,3118. Významnější vliv na Δ LDL-C má však LDL-C měřený s korelačním koeficientem - 0,4601.

Graf 4 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 0,99-1,99 mmol/l



V krabicovém grafu č. 4 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-C vypočteného a měřeného. Z grafu lze vyčíst, že medián pro nepřímou metodu je 2,36 mmol/l. Nejvyšší vypočtenou hodnotou LDL-C je 3,98 mmol/l, nejnižší naopak 0,62 mmol/l. Průměr pro nepřímo získané hodnoty LDL-C v této skupině je 2,36 mmol/l. Pro LDL-C měřený je medián 2,85 mmol/l. Nejvyšší naměřenou koncentrací je 4,44 mmol/l a naopak nejmenší 0,82 mmol/l. Průměr měřeného cholesterolu v této skupině je 2,76 mmol/l. Rozdíl mezi mediány LDL-C je 17,2 %.

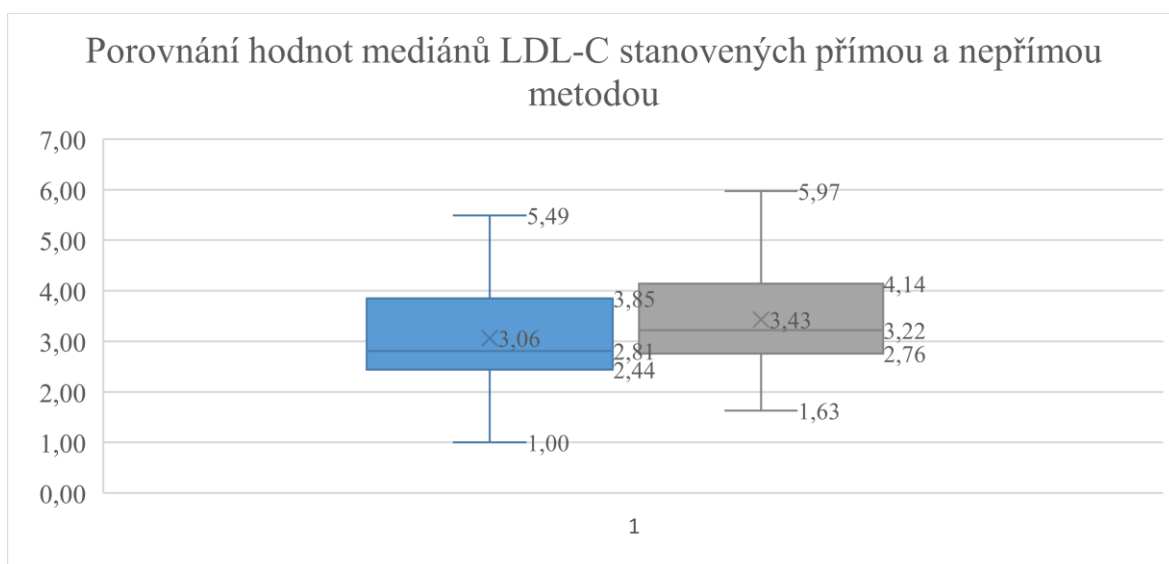
Tabulka 9 Korelační koeficienty v podskupině pacientů s HDL-C 2,0 mmol/l a vyšší

	Věk	Pohlaví	Chol	TG	HDL-C	LDL výpočetem	LDL přímo	Δ LDL-C
Věk	1	0,2593	-0,1321	0,1359	-0,2712	-0,0901	-0,0349	-0,2658
Pohlaví	0,2593	1	-0,1142	0,053	0,0715	-0,1725	-0,11	-0,3071
Chol	-0,1321	-0,1142	1	0,4386	0,4306	0,9339	0,9429	0,0341
TG	0,1359	0,053	0,4386	1	0,0797	0,268	0,3616	-0,417
HDL-C	-0,2712	0,0715	0,4306	0,0797	1	0,1343	0,1678	-0,1457
LDL-výpočetem	-0,0901	-0,1725	0,9339	0,268	0,1343	1	0,9778	0,1859
LDL-přímo	-0,0349	-0,11	0,9429	0,3616	0,1678	0,9778	1	-0,0241
Δ LDL-C	-0,2658	-0,3071	0,0341	-0,417	-0,1457	0,1859	-0,0241	1

Tabulka č. 10 referuje o velmi významné korelaci mezi celkovým cholesterolem a LDL-C získaným výpočtem (korelační koeficient 0,9339) i přímo měřeným (korelační koeficient

0,9429). Krom LDL-C koreluje celkový cholesterol také s TG (korelační koeficient 0,4386) i HDL-C (korelační koeficient 0,4306). Z tabulky je patrná také velmi významná korelace mezi LDL-C vypočteným a měřeným s korelačním koeficientem 0,9778. Poslední opět nezanedbatelnou korelací je vliv TG na Δ LDL-C s korelačním koeficientem -0,417.

Graf 5 Porovnání mediánů hodnot LDL-C přímou a nepřímou metodou pro koncentrace HDL-C 2,0 mmol/l a vyšší



V krabicovém grafu č. 5 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-C vypočteného a měřeného. Z grafu lze vyčíst, že medián pro nepřímou metodu je 2,81 mmol/l. Nejvyšší vypočtenou hodnotou LDL-C je 5,49 mmol/l, nejnižší naopak 1,00 mmol/l. Průměr pro nepřímo získané hodnoty LDL-C v této skupině je 3,06 mmol/l. Pro LDL-C měřený je medián 3,22 mmol/l. Nejvyšší naměřenou koncentrací je 5,97 mmol/l a naopak nejmenší 1,63 mmol/l. Průměr měřeného cholesterolu v této skupině je 3,43 mmol/l. Rozdíl mezi mediány LDL-C je 5,9 %.

Tabulka 10 Porovnání mediánů triacylglycerolů a celkového cholesterolu v závislosti na HDL-cholesterolu

HDL-C (mmol/l)	TG (mmol/l)	Celk. cholesterol (mmol/l)
0-0,99	2,05	3,90
1,0-1,99	1,44	4,58
2 a více	1,14	5,80

V tabulce č. 10 jsou uvedeny mediány vypočtené z dat rozdělených do skupin dle HDL-C. Z výše uvedeného vyplývá, že se zvyšující se hodnotou HDL-C stoupají též hodnoty celkového cholesterolu. Naopak čím vyšší je koncentrace HDL-C, tím nižší je hladina triacylglycerolů.

DISKUZE

V teoretické části jsem se zabývala problematikou dyslipidemií a aterosklerózy. Pro správné pochopení obou zmíněných patologií bylo nutné popsat fyziologicky významné lipidy, jejich transport, metabolismus a stanovení. U dyslipidemií jsem popsala klasifikaci, diagnostiku a léčbu. Kapitola věnovaná ateroskleróze popisovala její etiologii, patogenezi a význam, stejně jako hlavní ovlivnitelné a neovlivnitelné rizikové faktory. K sepsání teoretické části jsem využila tuzemskou i cizojazyčnou odbornou literaturu obsahující aktuální poznatky.

První výzkumnou otázkou bylo, zda hodnoty HDL-cholesterolu ovlivňují výsledky LDL-cholesterolu získaného přímým měřením a výpočtem. Přímé stanovení bylo provedeno pomocí komerčně vyráběného kitu na přístroji Cobas® 8000. Nepřímá metoda získávala výsledky za využití Friedewaldovy rovnice. Výsledky pro obě metody byly vydávány v mmol/l.

Abych zjistila, zda jsou rozdíly mezi oběma metodami stanovení, porovнала jsem nejprve mediány a průměry LDL-C ze všech získaných dat (graf č. 1). Medián pro LDL-C získaný výpočtem byl 2,51 mmol/l. Medián pro hodnoty měřené byl 2,86 mmol/l. Již z těchto čísel vyplývá zřejmý rozdíl mezi výsledky stanovení. Tento rozdíl činí dokonce 12,08 % mezi oběma metodami. Pro zjištění, zda na tento zřejmý rozdíl má vliv HDL-C jsem zkoumaný vzorek pacientů rozdělila dle jeho hladin následovně: HDL-C 0-0,99 mmol/l, HDL-C 1,0-1,99 mmol/l a HDL-C 2,0 mmol/l vyšší.

První skupina pacientů s hodnotami HDL-C 0-0,99 mmol/l čítala dohromady 40 osob. Hodnota HDL-C pod 1,0 mmol/l je považována za patologicky sníženou a zároveň se jedná o nezávislý rizikový faktor, který napomáhá rozvoji kardiovaskulárních onemocnění. V této skupině byly mediány pro LDL-C získaný výpočtem 2,11 mmol/l a měřením 2,34 mmol/l, přičemž procentuální rozdíl mezi hodnotami získaných výsledků byl 9,8 %. Z přiložené tabulky korelací (tabulka č. 7) je zřejmé, že na tento rozdíl mezi oběma stanoveními má vliv hodnota triacylglycerolů (korelační koeficient -0,4157) stejně jako hodnota HDL-C (korelační koeficient -0,4286). Z korelačních koeficientů je patrné, že vliv obou veličin je srovnatelný. (WWW.BLW.CZ, on-line)

Druhá skupina pacientů s hodnotami HDL-C 1,0-1,99 mmol/l čítala celkem 41 osob. Hodnoty od 1,0 mmol/l jsou považovány za optimální – u mužů od 1,0 mmol/l a u žen nad 1,2

mmol/l. U žen je hladina HDL-C fyziologicky zvýšena v důsledku působení pohlavních hormonů, což má vliv i na pozdější výskyt KVO u tohoto pohlaví. V této skupině byly mediány pro LDL-C měřený 2,85 mmol/l a vypočtený 2,36 mmol/l, přičemž procentuální rozdíl mezi oběma stanovení byl 17,2 %, tedy největší. Z přiložené tabulky korelací (tabulka č. 8) je zřejmé, že na tento rozdíl má vliv celkový cholesterol (korelační koeficient -0,4327) a LDL-C stanovovaný přímo (-0,4601). Vliv HDL-C na rozdíl je dle korelačního koeficientu -0,2972, tj. velmi malý. (WWW.BLW.CZ, on-line)

Poslední skupinou byli pacienti s hodnotami HDL-C 2,0 mmol/l a vyššími. Celkem tento soubor čítal 39 osob. Medián pro hodnoty LDL-C získané výpočtem byl 2,81 mmol/l a pro hodnoty měřené 3,22 mmol/l. Procentuální rozdíl mezi oběma metodami byl 5,9 %, tedy nejmenší. Dle přiložené tabulky korelací (tabulka č. 9) se na rozdíl podílela především hladina triacylglycerolů s korelačním koeficientem -0,417. Naopak hladina HDL-C, s korelačním koeficientem -0,1457, měla na rozdíl vliv v podstatě zanedbatelný.

Druhá výzkumná otázka se zabývala významností v rozdílech mezi oběma způsoby stanovení a vlivy, které je způsobují. Část z této otázky byla popsána již výše. V první skupině pacientů s hodnotami HDL-C 0-0,99 mmol/l na rozdíl mezi získanými výsledky stanovení měl vliv obsah triacylglycerolů a HDL-cholesterolu.

Vliv triacylglycerolů na nepřímé stanovení LDL-C je obecně známou informací. Pro využití Friedwaldovy rovnice jsou hraniční hodnoty triacylglycerolů 4,5 mmol/l. Z našich výsledků je však zřejmé, že vliv mají i hodnoty výrazně nižší. Ve skupině s HDL-C 0-0,99 mmol/l je medián obsažených triacylglycerolů 2,05 mmol/l (viz tabulka č. 10). Vlivem triacylglycerolů na rozdíl mezi přímým a nepřímým stanovením LDL-C se zabývají podrobněji jiné práce, které došly k následujícím výsledkům.

Dle práce H. Vimmerové z roku 2020, vyplývá, že pro hodnoty triacylglycerolů v rozmezí 0,0-0,99 mmol/l lze užít obě metody stanovení. Mediány LDL-C vypočteného a měřeného jsou shodné a triacylglyceroly tudíž stanovení nijak neovlivňují. Ve skupině pacientů s hodnotami triacylglycerolů 1,0-1,49 mmol/l se již hodnoty začínají odlišovat a rozdíl mezi mediány obou metod je 5 %. Rozdíl mezi hodnotami obou stanovení pak stoupá společně s hodnotami triacylglycerolů. Ve skupině s TAG 1,5-1,99 mmol/l je rozdíl mezi stanoveními již 7 % a pro skupinu s TAG 2,0-2,99 mmol/l je rozdíl mediánů dokonce 10 %. V naší zkoumané skupině je největším mediánem pro triacylglyceroly 2,05 mmol/l, avšak spojitost mezi výsledky je zřejmá. (VIMMEROVÁ, 2020)

Práce V. Raškové z roku 2011 řeší také téma stanovení LDL-C v závislosti na hladině triacylglycerolů. Zde jsou pacienti děleni do skupin lehce odlišně. U pacientů s hladinou triacylglycerolů do 0,99 mmol/l nejsou zaznamenány statisticky významné rozdíly a pro stanovení LDL-C lze podle této práce využít obě metody. Ve skupině pacientů s hodnotou triacylglycerolů 1,0-1,99 mmol/l poskytuje metoda přímého stanovení vyšší hodnoty LDL-C, než jsou hodnoty získané výpočtem. Rozdíl mezi metodami již nabývá statistické významnosti. Ve skupině pacientů s hodnotami triacylglycerolů 2,0-2,99 mmol/l práce došla k podobným výsledkům, stejně jako u pacientů s hodnotami TAG vyššími. I zde je zřejmá přímá spojitost s našimi výsledky. (RAŠKOVÁ, 2011)

V druhé skupině pacientů s hodnotami HDL-C 1,0-1,99 mmol/l měl na rozdíl vliv hlavně celkový cholesterol. Procentuální rozdíl mezi mediány obou stanovení zde byl 17,2 %, tedy nejvýznamnější. Stanovení celkového cholesterolu je běžným biochemickým vyšetřením, které je prováděno např. v rámci preventivních prohlídek. Dříve hodnoty z tohoto stanovení sloužily pro odhad rizika první fatální aterosklerotické kardiovaskulární příhody v horizontu deseti let dle SCORE tabulek. Zvýšené hodnoty celkového cholesterolu pak úzce souvisí také s vyšší koncentrací LDL-C, HDL-C nebo přítomností chylomiker. Medián celkového cholesterolu v této skupině je 4,58 mmol/l a jeho hodnoty tedy nepřesahují fyziologické rozmezí (viz kapitola 1.2.2). Z tabulky korelací (tabulka č. 8) je však zřejmé že jeho hladina má vliv na stanovení LDL-C vypočteného i přímo měřeného. Vliv na výpočet vyplývá z jeho použití ve Friedewaldově rovnici, která slouží k určení hodnot vypočteného LDL-C. (WWW.CASOPISVNITRNILEKARSTVI.CZ, on-line)

V poslední skupině pacientů s hodnotami HDL-C 2,00 mmol/l a vyššími je rozdíl mezi oběma metodami pouze 5,9 %, tedy nejmenší, přičemž hlavní vliv na rozdíl měla opět hladina triacylglycerolů, jejíž vliv byl podrobně popsán výše.

ZÁVĚR

V této práci jsem prokázala, že největší vliv na rozdíl mezi stanoveními LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou měl zřejmě HDL-cholesterol v rozmezí 0-0,99 mmol/l. Jeho vliv však v této skupině nebyl samostatný a výsledný rozdíl mezi oběma metodami ovlivňovala také hladina triacylglycerolů. Korelace HDL-C a Δ LDL-C (rozdíl mezi LDL-C měřeným a vypočteným) ale nebyla silnější než korelace TAG a Δ LDL-C. Dle tabulky č. 10 je zřejmé, že čím nižší je hodnota HDL-cholesterolu, tím vyšší je hladina triacylglycerolů a nejspíše i naopak. Vzhledem k hodnotě triacylglycerolů, jejichž vliv na Friedwaldovu rovnici je všeobecně znám, a výsledků vzešlého z našeho šetření, by bylo v této skupině vhodnější volit raději přímé stanovení LDL-cholesterolu. Se zvyšující se hladinou HDL-cholesterolu však jeho vliv na obě metody klesal, a pokud by nedošlo k ovlivnění výsledku jiným analytem, patrně nezáleží na tom, jakou metodu k určení LDL-cholesterolu využijeme.

Bakalářská práce splnila své cíle a zároveň zodpověděla své výzkumné otázky. V praxi může tato práce sloužit jako podklad pro studenty, kteří chtějí získat základní znalosti o dyslipidemiích, ateroskleróze, stejně jako stanovení krevních lipidů.

8 CITOVANÁ LITERATURA

1. BURYŠKA, Jan. www.internimedicina.cz. *Interní medicína pro praxi*. 2005, Sv. 2005, 9.
2. Metabolismus: Triacylglycerolů. www.studiumbiochemie.cz. [Online] [Citace: 26. 2 2023.] http://www.studiumbiochemie.cz/metabolismus_lipidy.html.
3. ČEŠKA, Richard. *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. Vyd. 4. Praha : Triton, 2012. ISBN 978-80-7387-599-2.
4. ČEŠKA, Richard, ŠTULC, Tomáš, Vladimír TESAŘ a Milan LUKÁŠ, ed. *Interna 3., aktualizované vydání*. Praze : Stanislav Juhaňák, 2020. ISBN 978-80-7553-780-5.
5. ČEŠKA, Richard, Otto HERBER, Michal PROKEŠ a Michal VRÁBLÍK. *Dyslipidémie: doporučený diagnostický a terapeutický postup pro všeobecné praktické lékaře 2021*. Praha : Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře, 2021. ISBN 978-80-88280-25-5.
6. DASTYCH, Milan a Petr BREINEK. *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant. 3. vydání*. Brno : Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7788-1.
7. Fosfolipidy. www.galenus.cz. [Online] Institut Galenus, 2023 . [Citace: 26. 2 2023.] <https://www.galenus.cz/clanky/lipidy/biochemie-lipidy-fosfolipidy>.
8. FRANEKOVÁ, J., FRIEDECKÝ, B., JABOR, A., PALIČKA, V., STOŽICKÝ, F., SOŠKA, V. Referenční meze, optimální a cílové hodnoty v kontextu klinického hodnocení lipidového profilu. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2006, No.4.
9. GROFOVÁ, Zuzana. Mastné kyseliny. www.medicinapropraxi.cz. [Online] Actavia, 2010. [Citace: 26. 2 2023.] <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/08/10.pdf>.
10. TŮMOVÁ, E. A VRÁBLÍK, M. Stratifikace kardiovaskulárního rizika a nové cílové hodnoty sérových lipidů. www.kardiologickarevue.cz. [Online] MeDitorial, 2023 . [Citace: 1. 2 2023.] <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2017-3/stratifikace-kardiovaskularniho-rizika-a-nove-cilove-hodnoty-serovych-lipidu-61751>.

11. MURRAY, Robert K. *Harperova ilustrovaná biochemie. 5. české vyd.* Praha : Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-907-7.

12. W. GREG MILLER, et al. Seven Direct Methods for Measuring HDL and LDL Cholesterol Compared with Ultracentrifugation Reference Measurement Procedures. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>. [Online] National Library of Medicine, 2023. [Citace: 16. 1 2023.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4687457/>.

13. Porovnání stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou. *synlabianer.cz*. [Online] synlab czech s.r.o., 2023. [Citace: 15. 2 2023.] <https://synlabianer.cz/doporucujeme/porovnani-stanoveni-ldl-cholesterolu-primou-a-neprimou-metodou/>.

14. *Pediatric Reference Intervals. Sixth Edition.* Soldin S.J., Brugnara C., Wong E.C. místo neznámé : AACC, 2007. ISBN 978-1-59425-067-5.

15. SOŠKA, Vladimír, Janka FRANEKOVÁ, Bedřich FRIEDECKÝ, Antonín JABOR, Pavel KRAML, Hana ROSOLOVÁ a Michal VRABLÍK. Společné stanovisko českých odborných společností ke konsenzu European Atherosclerosis Society a European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine k vyšetřování krevních lipidů a k interpretaci jejich hodnot. *athero.cz*. [Online] 2017. [Citace: 25. 2 2023.] <https://athero.cz/wp-content/uploads/2020/02/Spolecne-stanovisko-ceskych-odbornych-spolecnosti-ke-konsenzu-Eu-ropean-Atherosclerosis-Society-a-European-Federation-of-Clinical-Chemistry-and-Laboratory-Medicine-k-vy%C5%A1et%C5%99ov%C3%A1n%C3%AD-krevn%C3%AD>.

16. SOŠKA, V., POLEDNE,R., a kol. Společné doporučení České společnosti klinické biochemie a České společnosti pro aterosklerózu pro sjednocení hodnotících mezi krevních lipidů a lipoproteinů pro dospělé populaci. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2010, 1.

17. TÁBORSKÝ, Miloš, Josef KAUTZNER, Aleš LINHART, Robert HATALA, Eva GONSALVESOVÁ a Peter HLIVÁK. *Aterosklerotická a žilní onemocnění*. ed. Kardiologie. III. Praha : Česká kardiologická společnost, 2021. ISBN 978-80-271-1439-9.

18. URBANOVÁ, ŠAMÁNEK, ČEŠKA, FREIBERGER, POLEDNE, CÍFKOVÁ, VAVERKOVÁ, ROSOLOVÁ, SOŠKA, PIŤHA, ŠTULC, VRÁBLÍK. Doporučení pro dg. a léčbu DLP u dětí a dospívajících vypracované výborem ČSAT. *CorVasa*. 2008.
19. VRÁBLÍK, Michal, Jan PIŤHA, Vladimír BLÁHA, et al. Stanovisko výboru České společnosti pro aterosklerózu k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií z roku 2019. *e-coretvasa.cz/*. [Online] Česká kardiologická společnost, 2019. [Citace: 23. 2 2023.] http://e-coretvasa.cz/artkey/cor-202002-0004_stanovisko-vyboru-ceske-spolecnosti-pro-aterosklerozu-k-doporucenim-esc-eas-pro-diagnostiku-a-lecbu-dyslipidemi.php.
20. Vstřebávání a transport lipidů. *www.galenus.cz*. [Online] Institut Galenus, 2023 . [Citace: 25. 2 2023.] <https://www.galenus.cz/clanky/lipidy/biochemie-lipidy-vstrebavani-a-transport-lipidu>.
21. HDL Cholesterol. *www.blw.cz*. [Online] BLW s.r.o., 2020. [Citace: 5. 3 2023.] https://www.blw.cz/z-lekarskeho-pohledu/kardiovaskularni-onemocneni/hdl-cholesterol.html?fbclid=IwAR0_zgW_Qfc0uxXRbna3ODuJ0ozTpQCIsveXokVE-gXGeiUByuX-WXbkPac.
22. SOŠKA, VLADIMÍR. Měření cholesterolu a současná doporučení. *Vnitřní lékařství*. 2022, Sv. 1, 68.
23. VIMMEROVÁ, Hana. Ateroskleróza a její rizikové faktory, porovnání stanovení LDL-cholesterolu. 2020.
24. RAŠKOVÁ, Veronika. Srovnání přímého měření LDL-cholesterolu a výpočtu LDL-cholesterolu v závislosti na hladině triglyceridů. 2011.
25. HDLC4. místo neznámé : Roche Diagnostics, 2020.
26. CHOL2. místo neznámé : Roche Diagnostics, 2022.
27. LDLC3. místo neznámé : Roche Diagnostics, 2022.
28. TRIGL. místo neznámé : Roche Diagnostics, 2022.

