

**Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave**  
**Fakulta zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici**

**Evidenčné číslo: 10693**

**Porovnanie priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL cholesterolu**

**Bakalárska práca**

**2017**

**Jana Očenášová**

**Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave**  
**Fakulta zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici**

**Porovnanie priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL cholesterolu**

**Bakalárska práca**

**Študijný program:** Laboratórne vyšetровacie metódy v zdravotníctve

**Študijný odbor:** 7.4.3. Laboratórne vyšetровacie metódy v zdravotníctve

**Školiace pracovisko:** Centrálny laboratórny komplex- pracovisko klinickej biochémie

**Školiteľ:** MUDr. Dáša Albertyová

**Banská Bystrica 2017**

**Jana Očenášová**



SLOVENSKÁ ZDRAVOTNÍCKA UNIVERZITA v Bratislave

**Fakulta zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici**

Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve FZ SZU

## **Z A D A N I E   Z Á V E R E Č N E J   P R Á C E**

**Evidenčné číslo: 10693**

Názov záverečnej práce:

**Porovnanie priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL cholesterolu**

Pokyny pre vypracovanie: Porovnať priame a nepriame stanovenie LDL- cholesterolu na súbore náhodne vybratých pacientov.

Študijný odbor: 7.4.3. laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Študijný program: laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Typ záverečnej práce: Bakalárska práca Bc.

Akademický rok: 2016/2017

Autor záverečnej práce: Jana Očenášová

Vedúci záverečnej práce: MUDr. Dáša ALBERTYOVÁ

Konzultant záverečnej práce:

Dátum zadania záverečnej práce: 27.06.2016

ČESTNÉ VYHLÁSENIE:

Vyhlasujem, že moju bakalársku prácu som vypracovala samostatne a literatúru, ktorú som v nej použila som uviedla v zozname literatúry.

Banská Bystrica 10.3.2017

.....

## **Pod'akovanie**

Ďakujem MUDr. Dášy Albertyovej za cenné a podnetné odborné rady, ktoré mi poskytla a za čas, ktorý mi venovala pri vypracovaní bakalárskej práce.

## **Abstrakt**

OČENÁŠOVÁ, Jana: *Porovnanie priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL cholesterolu*. Slovenská zdravotnícka univerzita. Fakulta zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici Bakalárska práca, 2017, 47 strán

Zvýšený LDL cholesterol (LDL-C) sa považuje za významný rizikový faktor vzniku kardiovaskulárnych ochorení. V úvodnej teoretickej časti sa bakalárska práca zaoberá chemickým zložením, metabolizmom a funkciou lipoproteínov v zdraví a chorobe. Cieľom praktickej časti práce je porovnanie dvoch metód stanovenia LDL-C: tzv. nepriamej metódy využívajúcej na stanovenie LDL-C výpočet podľa Friedewalda a priamej komerčnej metódy (Beckman Coulter), ktorú využívajú hlavne veľké laboratóriá. Hodnoty LDL-C stanovené nepriamou metódou sú štatisticky významne vyššie ( $P < 0,001$ ) ako hodnoty LDL-C z priamej metódy. Výsledky nepriamej metódy značne ovplyvňujú hodnoty celkového cholesterolu (TC  $< 4,0$  mmol/l) a triacylglycerov (TG 2 – 4,5 mmol/l). Korelačný koeficient ( $r = 0,976$ ,  $P < 0,001$ ) poukázal na tesný lineárny vzťah obidvoch metód. Pre diagnostiku, liečbu a monitorovanie pacientov so zvýšenými hladinami LDL-C/TC odporúčame využiť priamu metódu, ktorá má menej falošne pozitívnych výsledkov a umožňuje tak správnejšiu kategorizáciu pacientov do rizikových skupín. Práca bola vykonaná na Pracovisku klinickej biochémie Centrálného laboratórneho komplexu FNsP F. D. Roosevelta v Banskej Bystrici.

**Kľúčové slová:** lipoproteíny, LDL-cholesterol, priama homogénna analýza, vzorec podľa Friedewalda, porovnanie

## **Abstract:**

OČENÁŠOVÁ, Jana: *Comparison of direct and indirect method of LDL cholesterol determination.*

Slovak Medical University. Faculty of Health in Banská Bystrica.

Bachelor thesis, 2017, 47 pages

Increased level of LDL cholesterol (LDL-C) is considered a significant risk factor of development of cardiovascular diseases. In the introductory theoretical part, the bachelor thesis deals with chemical content, metabolism and function of lipoproteins in health and disease. The aim of the practical part of the thesis is a comparison of two methods of LDL-C determination: so-called indirect method using calculation based on Friedewald formula to determine LDL-C, and direct commercial method (Beckman Coulter) which is used mostly by the big laboratories. Levels of LDL-C determined by indirect method are statistically significantly higher ( $P < 0.001$ ) than levels of LDL-C acquired by direct method. Results of the indirect method are considerably influenced by levels of total cholesterol ( $TC < 4.0 \text{ mmol/l}$ ) and triglycerides ( $TG 2 - 4.5 \text{ mmol/l}$ ). Correlation coefficient ( $r = 0,976$ ,  $P < 0,001$ ) shows a strong linear relationship of both methods. For diagnosis, treatment and monitoring of patients with increased LDL-C levels we recommend using the direct method which shows less falsely positive results and allows more accurate categorization of patients into risk groups. The thesis has been administered at the Department of clinical biochemistry of Central laboratory complex in FNŠP of F. D. Roosevelt in Banská Bystrica.

**Key words:** lipoproteins, LDL-cholesterol, direct homogeneous analysis, Friedewald formula, comparison

# OBSAH

1 ÚVOD.....	9
2 TEORETICKÁ ČASŤ .....	10
2.1. Lipidy .....	10
2.2. Lipoproteíny .....	12
2.2.1. Rozdelenie LP .....	12
2.3. Cholesterol .....	17
2.4. Metabolizmus lipoproteínov (receptory, enzýmy a transportné proteíny).....	19
2.6. Dyslipidémie .....	25
2.7. Ateroskleróza .....	28
3 PRAKTICKÁ ČASŤ .....	33
3.1. Materiál a metódy .....	33
3.2. Výsledky .....	35
4 DISKUSIA.....	40
5 ZÁVERY .....	42
6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	43
7 PRÍLOHA .....	46



## **SKRATKY A ZNAČKY**

<b>Acetyl- CoA</b>	<b>acetyl - koenzým A</b>
<b>Apo</b>	<b>apolipoprotein</b>
<b>CETP</b>	<b>cholesteryl- ester- transfer- protein</b>
<b>DLP</b>	<b>dyslipoproteinémie</b>
<b>EGF</b>	<b>endotelový rastový faktor</b>
<b>FGF</b>	<b>fibroblastový rastový faktor</b>
<b>HDL</b>	<b>lipoproteíny s vysokou hustotou</b>
<b>HLP</b>	<b>hyperlipoproteinémie</b>
<b>CHM</b>	<b>chylomikróny</b>
<b>IDL</b>	<b>lipoproteíny s intermediárnou hustotou</b>
<b>ICHS</b>	<b>ischemická choroba srdca</b>
<b>LCAT</b>	<b>lecitín – cholesterol - acyltransferáza</b>
<b>LDL</b>	<b>lipoproteíny s nízkou hustotou</b>
<b>LDL-C</b>	<b>LDL cholesterol</b>
<b>LP</b>	<b>lipoproteíny</b>
<b>MDGF</b>	<b>makrofágový rastový faktor</b>
<b>MK</b>	<b>mastné kyseliny</b>
<b>PDGF</b>	<b>trombocytový rastový faktor</b>
<b>PL</b>	<b>pankreatická lipáza</b>
<b>SDGF</b>	<b>rastový faktor hladkého svalstva</b>
<b>TC</b>	<b>celkový cholesterol</b>
<b>TG</b>	<b>triacylglyceroly</b>
<b>VLDL</b>	<b>lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou</b>
<b>VMK</b>	<b>vyššie mastné kyseliny</b>

# 1 ÚVOD

Kardiovaskulárne ochorenia v súčasnosti patria spolu s nádorovými ochoreniami medzi najčastejšie príčiny morbidity, pričom ich výskyt prevyšujúci 50% je priam alarmujúci.

Low density lipoproteins, LDL – cholesterol sú o triacylglyceroly ochudobnené produkty katabolizmu VLDL, ktoré sú obohatené o cholesterol. Obsahujú a transportujú 75-80% celkového cholesterolu s cieľom doručenia cholesterolu do tkanív tela, ktoré ho následne použijú na syntézu bunkových membrán a steroidných hormónov. LDL – cholesterol, často krát označovaný ako tzv. "zlý" cholesterol sa označuje týmto pomenovaním vďaka tomu, že pokiaľ je ho v krvi nadbytok, tento sa ukladá v stenách artérií a stáva sa hlavnou zložkou aterosklerotickej lézie. Výsledky mnohých štúdií poukázali na fakt, že zvýšená koncentrácia hladín LDL v krvnej plazme je príčinou aterosklerózy a tým sa zvyšuje aj riziko pre ischemickú chorobu srdca, náhlu cievnu mozgovú príhodu a iné. Preto je pre klinickú prax a najmä pre pacientov významné a prínosné vyšetřovať parametre lipidového metabolizmu.

Pre bežnú rutinnú prax sa hodnota LDL cholesterolu vypočíta z Friedewaldovej rovnice aj napriek jej obmedzeniam použitia ktoré táto nepriama metóda stanovenia prináša. Výhodou je jednoduchý postup ale na druhej strane nevýhodou tejto metódy je zvýšená nepresnosť a nesprávnosť koncentrácie LDL cholesterolu čo je súčtom mnohých chýb pri analýze stanovenia triacylglycerolov, celkového cholesterolu a HDL cholesterolu.

Túto prácu sme si zvolili vďaka neustále stúpajúcemu výskytu závažných kardiovaskulárnych ochorení na Slovensku i vo svete. V práci sme sa zamerali na charakteristiku lipidov, ich metabolizmus, takisto sme sa venovali jednotlivým metódam stanovenia lipoproteínov.

Cieľom tejto bakalárskej práce je porovnanie priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL-cholesterolu, ktorý je hlavným rizikovým faktorom aterosklerózy.

## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

Lipidy sú výbornou zásobárňou pre všetky metabolické funkcie v organizme. Organizmus si vytvára ich zásobu a používa ich pri rôznych dejoch( Kollár, 1996).

### 2.1. Lipidy

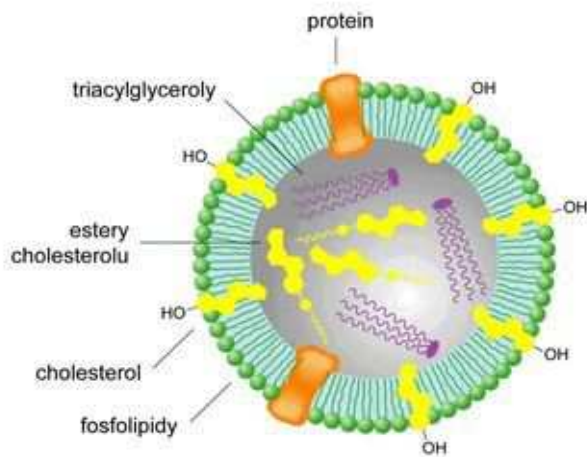
#### Definícia lipidov

Lipidy patria medzi základné komponenty výživy. Získavajú sa buď z prírodných zdrojov, niektoré syntetizuje človek aj živočíchy. Môžu mať povahu vo vode čiastočne rozpustných, prípadne nerozpustných tukov. Rozpúšťajú sa len v rozpúšťadlách organickej povahy. Objavujú sa v pevnom resp. tuhom skupenstve ako živočíšne lipidy a v tekutom stave napr. oleje( Kollár,1996).

Nakoľko sú v krvi nerozpustné, transport z miesta syntézy na miesto ich katabolizmu je realizovaný pomocou špecifických častíc, lipoproteínov (LP). Bielkovinová zložka LP sa označuje apolipoproteín (Apo)(Češka a kol., 2012). Vid'. obr. č. 1

#### Obr. č. 1: Schematické znázornenie LP

(<https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/2491>,17.11.2016).



## **Funkcia lipidov**

Lipidy patria medzi základné stavebné zložky všetkých biologických membrán. Vyznačujú sa tým, že sú najefektívnejšou zásobárňou energie a tvoria obal niektorých orgánov vďaka čomu ich chránia pred mechanickým poškodením, zabezpečujú aj tepelnú izoláciu mnohých orgánov. V organizme sa podieľajú na špecifických funkciách

(<http://www.lipidy.estranky.sk/clanky/biologicky-vyznam-a-funkcia/funkcie-lipidov-.html>, 17.11.2016 ).

## **Základné delenie lipidov**

Lipidy rozdeľujeme na jednoduché a zložené.

**Jednoduché lipidy** : estery mastných kyselín (MK) s príslušným alkoholom

a) **tuky**: estery MK s glycerolom , tuky vyskytujúce sa v tekutom stave nazývame oleje

b) **vosky**: estery vyšších mastných kyselín (VMK) s vyššími jednosýtnymi alkoholmi

**Zložené lipidy** :estery MK, ktoré okrem alkoholu a MK obsahujú ešte ďalšiu skupinu

- a) **fosfolipidy**: estery MK obsahujúce okrem MK a alkoholu tiež zvyšok kyseliny fosforečnej , často obsahujú aj dusíkatú bázu ako napríklad sfingofosfolipidy
- b) **glykolipidy(glykosfingolipidy)**: lipidy obsahujúce MK , sfingozín a sacharid
- c) **ostatné zložené lipidy** : napríklad sulfolipidy a aminolipidy ,do tejto kategórie môžeme zaradiť tiež LP

**Prekurzory a deriváty lipidov** : MK, glycerol, steroidy, ostatné alkoholy, mastné aldehydy, ketolátky, uhľovodíky, vitamíny rozpustné v tukoch a hormóny. Acylglyceroly , cholesterol a jeho estery nedisociujú, nemajú náboj. Označujú sa ako **neutrálne lipidy** (tuky). (Murray, Bender, Kennelly, Rodwell, Weil, 2012).

## **2.2. Lipoproteíny**

### **2.2.1. Rozdelenie LP**

Najbežnejšie rozdelenie LP je na základe fyzikálno- chemických vlastností. Podľa separačnej ultracentrifugácie sa rozlišuje niekoľko lipoproteínových frakcií:

Chylomikróny - (CHM)

VLDL - lipoproteíny veľmi nízkej hustoty

IDL - intermediárne častice

LDL - lipoproteíny nízkej hustoty

HDL - lipoproteíny vysokej hustoty (Češka a kol., 2012).

#### **Chylomikróny**

CHM sú lipoproteínové častice s najnižšou hustotou, sú najväčšie, vytvárajú sa v bunkách sliznice tenkého čreva z tukov, ktoré pochádzajú z potravy, pričom pomer bielkovín a tukov v CHM je 1:100 a lipidová zložka CHM sú triacylglyceroly (TG). ([http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEIN%20A-I%20\(ApoA-I\).pdf](http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEIN%20A-I%20(ApoA-I).pdf)), 17.11.2016).

#### **VLDL**

LP s veľmi nízkou hustotou (VLDL - Very Low Density Lipoproteins). Tvorja sa v pečeni z TG, ktoré vznikajú premenou sacharidov privádzaných do tela potravy. ([http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEIN%20A-I%20\(ApoA-I\).pdf](http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEIN%20A-I%20(ApoA-I).pdf)), 17.11.2016).

#### **IDL**

U zdravých jedincov sa vyskytujú v nízkych koncentráciách . Sú to lipoproteíny s intermediárnou hustotou (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439> , 20.11.2016).

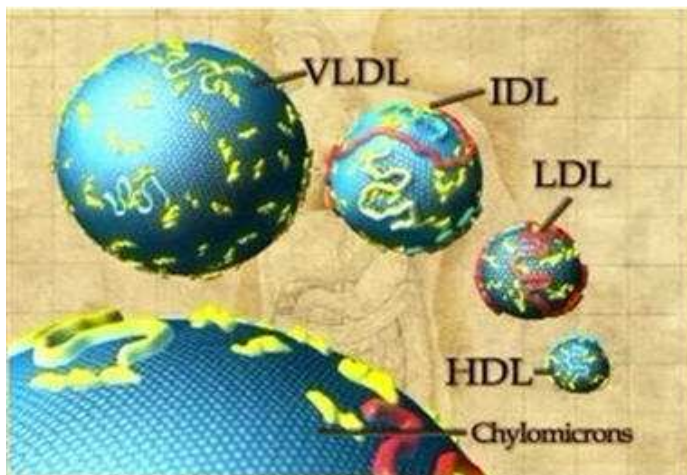
## LDL

LP s nízkou hustotou (LDL- Low Density Lipoproteins) vznikajú z VLDL častíc a to odbúraním TG. Cholesterol je hlavnou zložkou LDL častíc. LDL sú nosičom endogénneho aj exogénneho cholesterolu v krvi

([http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOP ROTEN%20A-I%20\(ApoA-I\).pdf](http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOP%20ROTEN%20A-I%20(ApoA-I).pdf), 17.11.2016).

## HDL

LP s vysokou hustotou (HDL- High Density Lipoproteins) sú najmenšie lipoproteínové častice pričom pomer lipidov a proteínov je 1:1. Tvorja sa v *hepate* ([http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOP ROTEN%20A-I%20\(ApoA-I\).pdf](http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOP%20ROTEN%20A-I%20(ApoA-I).pdf)), 17.11.2016).



**Obr. č. 2:** Cyklus lipoproteínov (<http://www.bodyhacking.cz/blog/cholesterol-najznamejsia-najmenej-znama-molekula.html>, 17.11.2016).

### 2.2.2. Apolipoproteíny, funkcia a metódy stanovenia

Bielkoviny, ktoré viažu lipidy sú definované ako apolipoproteíny. Majú vlastnosť, resp. schopnosť tvoriť rozpustné polydisperzné častice.

#### Funkcie apolipoproteínov v metabolizme tukov

- sú kofaktory enzýmov podieľajúcich sa na lipoproteínovom metabolizme
- prostredníctvom nich sa viažu LP na špecifické receptory
- štrukturálne bielkoviny LP častíc

d) zúčastňujú sa na prenose alebo výmene lipidových častíc medzi jednotlivými LP(Češka a kol., 2012).

**Tab. č. 1:** Prehľad niektorých apolipoproteínov ( Češka a kol., 2012).

<b>Apolipoproteín</b>	<b>Vznik</b>	<b>Molekulová Hmotnosť*</b>	<b>Lipoproteíny</b>	<b>Funkcia, klinický význam</b>
<b>apo A-I</b>	črevo pečeň	28 000	HDL, CH	aktivátor LCAT, štruktúrálly proteín  Nízka hladina= riziko ICHS
<b>apo A-II</b>	črevo pečeň	17 000	HDL, CH	aktivátor pečenej lipázy, štruktúrálly proteín
<b>apo A-IV</b>	črevo	46 000	HDL, CH	funkcia pri transporte glyceridov
<b>apo B-48</b>	črevo	264 000	CH	štruktúrálly proteín, väzba na receptory
<b>apo B-100</b>	pečeň	550 000	LDL	štruktúrálly proteín, väzba na receptory, vysoká hladina = vznik ICHS
<b>apo C-I</b>	pečeň	5 800	CH, VLDL, IDL, HDL	aktivácia LCAT
<b>apo C-II</b>	pečeň	9 100	CH, VLDL, IDL, HDL	aktivácia lipoproteínovej lipázy
<b>apo C-III</b>	Pečeň	8 750	CH, VLDL, IDL, HDL	inhibícia lipoproteínovej lipázy
<b>apo E</b>	periférne tkanivá, pečeň	35 000	CH, VLDL, IDL, HDL	štruktúrálly proteín, väzba na receptory, odbúravanie častíc bohatých na cholesterol a TG

\*molekulová hmotnosť je uvádzaná v daltonoch

## **Základné charakteristiky jednotlivých apolipoproteínov**

### **ApoA- I**

Tvorí sa v pečeni a v tenkom čreve. Je to hlavná zložka triedy HDL, tvorí 30% HDL častice. Hlavnou fyziologickou funkciou je príjem a uvoľňovanie voľného cholesterolu z buniek a bunkám, tiež slúži ako kofaktor v reakcii LCAT (Lecitín- cholesterol-acyltransferázy). Tieto procesy nazývame reverzný cholesterolový transport, teda transport cholesterolu späť do pečene (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

### **ApoA-II**

Tvorí sa v čreve a pečeni podobne ako ApoA- I. Patrí medzi druhý najznámejší apolipoproteín triedy HDL. Zistilo sa, že čím vyššia je hladina apoA- II v krvnej plazme, tým nižšie je riziko rozvoja kardiovaskulárnych ochorení. ApoA- II prispieva k priebehu reverzného transportu cholesterolu aj k redukcii LDL oxidácie (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

### **ApoA- IV**

Syntetizuje sa v čreve a jeho syntéza je podporovaná aktívnou absorpciou lipidov. Tvorí sa tiež v tenkom čreve a syntéza prebieha aj v hypotalame. Vyskytuje sa väčšinou vo väzbe s CHM ale tiež v malých HDL a vo frakcii séra, ktorá neobsahuje LP. Vykazuje aktivity vzhľadom k metabolizmu lipidov a LP. Vo chvíli, keď HDL absorbujú produkty lipolýzy LP bohatých na TG, oddelí sa apoA- IV od HDL a vracajú sa späť do lymfy. ApoA- IV vykazuje protizápalové, antisklerotické a tiež antioxidačné účinky. Črevný aj hypotalamický apoA- IV, ktoré nachádzame v cirkulácii sú anorexigénne peptidy, ktoré potláčajú chuť do jedla. (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

### **ApoB**

ApoB je hlavným komponentom LDL a IDL a je dôležitým komponentom aj VLDL a CHM. (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).



Vyskytuje sa v dvoch formách:

- apoB100, ktorá sa vyskytuje vo VLDL a LDL, tvorí sa v pečeni. Jej väzby s lipidovým jadrom sú extrémne stabilné a vďaka tomu sa apoB nevymieňa počas metabolizmu medzi jednotlivými LP
- apoB48, nachádza sa v CHM, tvorí sa v pečeni ako N-terminálna polovica apoB100.

ApoB sa zdá byť potrebný pre tvorbu LP bohatých na TG. Súčasne je taktiež aj ligandom B, E receptoru (LDL receptor). Existuje aj polymorfizmus apoB, ktorý vedie k rôznej rýchlosti katabolizmu LDL v bunkách, to je zapríčinené rozličnou afinitou k tomuto receptoru (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

### **ApoC**

Tvorený je prevažne v pečeni. Túto triedu apolipoproteínov tvoria tri malé peptidy označené C-I, C-II a C-III vyskytujúce sa takmer vždy spolu. Prítomné sú predovšetkým v HDL časticiach. Pokiaľ sú prítomné LP bohaté na TG, dochádza k prenosu apoC do týchto častíc a k ich opätovnému uvoľneniu po hydrolýze TG. C-I aktivuje LCAT a inhibuje, resp. blokuje fosfolipázu A2, C-II je hlavným kofaktor lipoproteínovej lipázy a C-III chráni tzv. zbytky (remnants) od predčasného odstránenia pečeňou a inhibuje aktivitu endotelálnej lipoproteínovej lipázy (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

### **ApoE**

Tvorí sa v pečeni a je distribuovaný rovnomerne medzi VLDL a HDL častice. Podobne ako u apoC dochádza aj u apoE k výmenám medzi týmito hustotnými triedami. Slúži ako ligand pre dva rozličné receptory, pre zbytkový (remnant) receptor a pre B, E receptor. K receptoru B,E má oveľa vyššiu afinitu ako apoB. ApoE vykazuje antisklerotickú aktivitu, ktorá je zrejme zapríčinená jeho účinkovaním pri (receptorom sprostredkovanej) utilizácii LDL pečeňou. Pri tomto spracovaní LDL pečeňou dochádza ku zníženiu hypercholesterolémie ale apoE brzdí aterosklerózu aj bez jej ovplyvnenia (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

## **Metódy stanovenia apolipoproteínov**

Pre prognózu vývoja poruchy v metabolizme lipidov má význam stanovenie apolipoproteínu A-I a apolipoproteínu B (apoB100). Tieto apolipoproteíny sa stanovujú imunochemicky, v bežnej rutinnej praxi (homogénnou) zákalovou metódou v roztoku, tj. turbidimetricky. Na stanovenie sa používajú špecifické protilátky od mnohých výrobcov (Dako, Orion, Immunotech). Metódy môžu byť automatizované (automatické biochemické analyzátory) alebo sa používajú špecializované fotometre ale aj nefelometre. (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439> 20.11.2016).

## **2.3. Cholesterol**

### **História objavu tvorby cholesterolu**

**Konrad Emil Bloch** bol priekopníkom pri objasňovaní biosyntézy cholesterolu a poukázal na súvislosť s endoplazmatickým retikulom, študoval aj proces vo vzťahu k jednotlivým bunkovým organelám. V roku 1964 získal za svoje objavy Nobelovu cenu. (<http://galenus.cz/clanky/biochemie/biochemie-lipidy-synteza-cholesterolu>, 2.2.2017).



**Obr.č. 3:** ([https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1964/bloch-bio.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1964/bloch-bio.html), 2.2.2017).

**Sir John Warcup Cornforth** nadviazal na prácu Blocha a študoval mechanizmus cyklizácie skvalénu a v roku 1975 získal Nobelovu cenu

(<http://galenus.cz/clanky/biochemie/biochemie-lipidy-synteza-cholesterolu>, 2.2.2017).



**Obr. č. 4:** ([https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1975/cornforth-bio.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1975/cornforth-bio.html)2.2.2017).

Cholesterol je živočíšny sterol obsahujúci 27 uhlíkov, jednu dvojitú väzbu a jednu alkoholovú skupinu. Vyskytuje sa v každej bunke v tele, zvlášť zastúpený je v nervovom tkanive. Tkanivá ho syntetizujú z acetyl- CoA ako amfipatický (hydrofilné aj hydrofóbne vlastnosti) lipid. Je dôležitým komponentom membrán a vnútornej vrstvy plazmatických LP. Nachádza sa v živočíšnych tukoch ale v rastlinných sa nevyskytuje.

Cholesterol je typický produkt živočíšneho metabolizmu, prekursorom steroidov v tele, kortikoidov, pohlavných hormónov, vitamínu D a žlčových kyselín. Z organizmu sa vylučuje vo forme žlčových kyselín žlčou a ako cholesterol, ktorý sa činnosťou baktérií v čreve mení na koprosterol (bakteriálna redukcia dvojitej väzby medzi uhlíkmi C5 a C6) (<http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>, 20.11.2016).

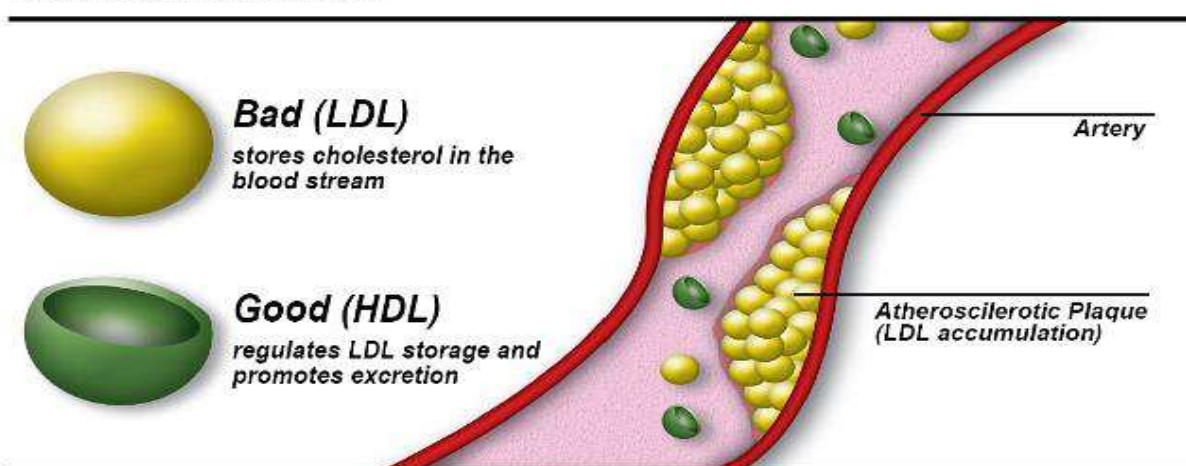
### **Čo je vlastne cholesterol?**

- žltkastá voskovitá látka nachádzajúca sa vo všetkých bunkách tela,
- má lipidový charakter,
- potrebná pre život
- organizmus si ho tvorí viac ako ho prijíme v samotnej potrave,
- syntetizuje ho hlavne pečeň, enterocyty a nervové tkanivo,
- využíva sa pri tvorbe žlčových kyselín a pohlavných hormónov (estrogén, testosterón, progesterón), a tiež vitamínu D a kortizolu,
- vzniká z nasýtených mastných kyselín, (Katz ,2010 ).

## Dobrý, zlý a ešte horší

Hovorí sa že “ všetkého veľa škodí ”, to isté môžeme povedať aj o cholesterole. Naše telo potrebuje cholesterol na rôzne procesy v organizme, avšak ak je ho nadbytok je pre organizmus škodlivý. Existuje “ dobrý ” a “ zlý ” cholesterol a od ich vzájomného pomeru závisí či sa v organizme rozvinie ischemická choroba srdca (ICHS), ateroskleróza alebo ďalšie iné ochorenia. Cholesterol je v krvi nerozpustný, viaže sa na bielkoviny a tak vznikajú LP (transportné bielkoviny) ktoré umožňujú tým, že sa na ne cholesterol naviaže vstup cholesterolu do buniek a tkanív (Katz, 2010 ).

### Bad vs. Good Cholesterol



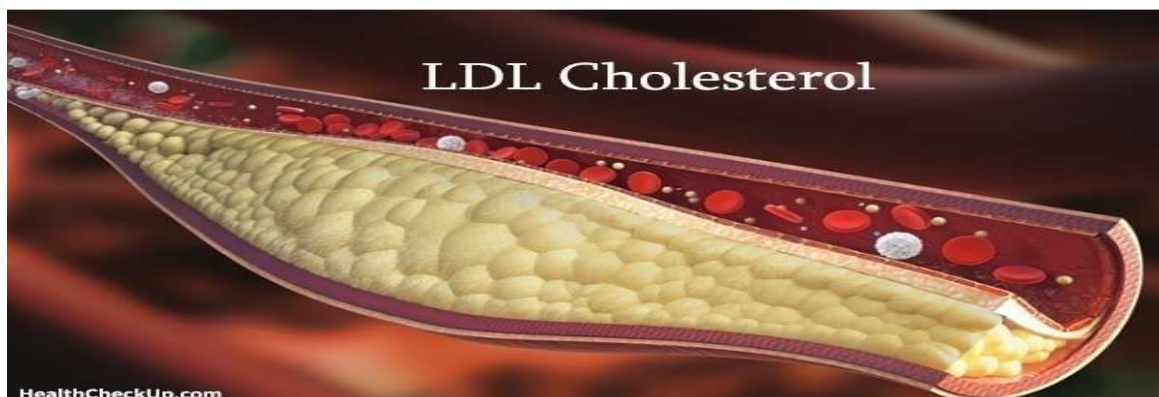
**Obr. č. 5:** Dobrý vs. zlý cholesterol (<http://developinghealthyhabits.com/cholesterol-blessing-or-curse/>,20.1.2017).

## 2.4. Metabolizmus lipoproteínov (receptory, enzýmy a transportné proteíny)

### LDL- lipoproteíny s nízkou hustotou

V krvnej plazme transportujú 75-80 % cholesterolu (najväčšie množstvo) a ten sa následne ukladá v tkanivách ale aj v tepnách, kde tvorí hlavnú úlohu pri tvorbe aterosklerotických plátov. Tieto častice obohatené o cholesterol sa ukladajú po stenách ciev čím zužujú ich priechodnosť a vďaka tomu aj znižujú množstvo cirkulujúcej krvi. Pokiaľ sú zasiahnuté vencovité tepny do srdca sa menej dostáva kyslík (Ako zvládnuť cholesterol, 2010).

**Obr. č. 6:** LDL - cholesterol (<https://www.healthcheckup.com/blog/heart/ldl-cholesterol/>, 20.1.2017).



Tieto menšie, hustejšie častice ľahko prechádzajú vnútornou stenou endotelu a ukladajú sa v jej stene a preto sú najviac škodlivé pre krvné cievy a nebezpečnejšie ako ostatné LP častice. Avšak ak máme v krvnej plazme zvýšený akýkoľvek typ LDL- cholesterolu je potrebné ho znížiť. Jeho optimálna hladina je závislá na osobnej anamnéze pacienta a rizikových faktoroch vzniku ICHS (Katz, 2010).

**Tab. č. 2: Hladina LDL - cholesterolu**

Hladina LDL - cholesterolu	Kategória
menej ako 2,5 mmol/l	<u>Optimálna</u>
2,5 mmol/l - 3,5 mmol/l	<u>blízka optimálnej</u>
3,5 mmol/l - 4,0 mmol/l	<u>hranične vysoká</u>
4,0 mmol/l - 5,0 mmol/l	<u>Vysoká</u>
5,0 mmol/l a viac	<u>veľmi vysoká</u>

**Poznámka :** Pokiaľ je vysoké riziko tak cieľom je znížiť u pacienta LDL- cholesterol pod 1,8 mmol/l.

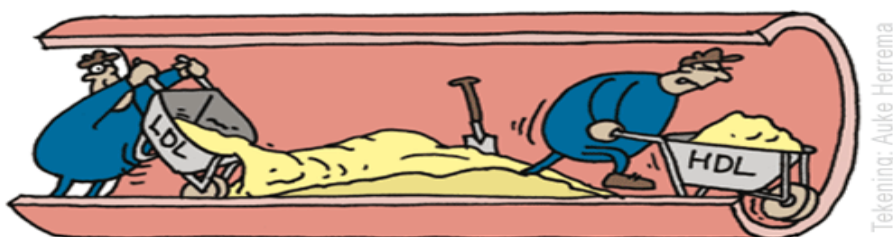
Hodnoty LDL- cholesterolu ovplyvňujú rôzne faktory:

- životný štýl ( strava, druhy tukov ktoré sú prijaté v potrave), telesná hmotnosť, pohyb, stres, fajčenie, alkohol, geneticky je to výskyt kardiovaskulárnych ochorení v rodine ( Katz ,2010).

## **HDL- cholesterol: lipoproteíny s vysokou hustotou**

HDL- cholesterol je označovaný ako “ dobrý ” pretože v krvi slúži ako “ smetiarske vozidlo ”. Transportuje cca 20-25% cholesterolu v krvnom riečisku. Spracováva sa v *hepate* kam prichádza z tkanív. Čím viac je HDL “ dobrého” cholesterolu tým menej je “ zlého ” LDL- cholesterolu (Katz ,2010).

**Obr. č. 7:** (<http://www.shrinkinguy.com/blog/how-healthy-is-your-blood,20.1.2017>).



Platí že čím vyššie hladiny HDL- cholesterolu máme tým je nižšie riziko vzniku kardiovaskulárnych chorôb, a naopak nízke hladiny toto riziko zvyšujú. HDL cholesterol odstraňuje LDL- cholesterol zo steny ciev (<http://www.shrinkinguy.com/blog/how-healthy-is-your-blood, 20.1.2017>).

Pri zníženej hladine HDL- cholesterolu sa zvyšujú hladiny nebezpečných krvných tukov ako napr. TG.

HDL majú v krvi 2 hlavné funkcie:

1. vďaka ich mastnej konzistencii tvoria protektívnu vrstvu na vnútornej strane tepien a tým inhibujú ukladanie tukov v stenách ciev.
2. pomáhajú aj pri rozpúšťaní tukových usadenín (Jedlička, 2009).

## **Chylomikrónové zvyšky ( remnanty)**

Vznikajú odštiepením z TG. Za normálnych okolností sú vycytávané v pečeni špecifickými receptormi pre apoE. Sú aterogénne, menšie, bohatšie na cholesterol a majú krátky polčas rozpadu. Pre pečeňové bunky – hepatocyty sú hlavným zdrojom exogénneho cholesterolu. Zvýšené hladiny týchto remnantov sú spôsobené napríklad obličkovou nedostatočnosťou ale aj potravou bohatou na nasýtené mastné kyseliny ale aj pri alkoholizme (Šamánek, Urbanová, 2003).

## **VLDL- lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou**

VLDL sú bohaté na TG a vytvárajú resp. syntetizujú sa v pečeni. TG sa syntetizujú z mastných kyselín. Cholesterol z ktorého sa VLDL vytvárajú potrebuje na svoju syntézu zvyšky t.j. – remnanty, CHM, HDL, IDL, LDL alebo sa tvoria endogénnou cestou v hepatocytoch. Nadmerná syntéza tukov nastáva, keď sa zvýši ich príjem v potrave. V časticiach VLDL sa nachádzajú apoB-100, C a E. Hladina VLDL sa môže zvýšiť napríklad pri renálnej insuficiencii, obezite, vrodenej hypertriacylglycerolémii, alkoholizme a mnohých ďalších ochoreniach (Šamánek, Urbanová 2003).

## **IDL- lipoproteíny s intermediárnou hustotou**

Vznikajú degradáciou častíc VLDL po odštiepení z TG. Obsahujú apo E a apo B -100, ktoré sa nachádzajú na ich povrchu. Majú veľmi krátky polčas rozpadu. Zvýšené hladiny bývajú charakteristické pri zníženej funkcii štítnej žľazy a pri familiárnej dysbetalipoproteinémií (Šamánek, Urbanová 2003).

## **Lipoproteín (a)**

LP- a má na svojom povrchu okrem apoB-100 naviazaný aj apolipoproteín (a) t.j. glykoproteín. Lipoproteín (a) je veľmi podobný častici LDL. S plazminogénom súťaží o väzbové miesto na plazmín a tak účinkuje v procese fibrinolýzy, t.z. že jeho zvýšené hladiny sa prejavujú trombogenézou (Šamánek, Urbanová 2003).

## **Receptory**

Lipoproteínové častice sa viažu na povrch bunky a vstupujú do nej prostredníctvom špecifických receptorov, ktoré sa nachádzajú na bunkovej membráne (Šamánek, Urbanová 2003).

## **LDL - receptor**

História: V roku 1985 Goldstein a Brown získali Nobelovu cenu za objasnenie funkcie a zloženia LDL- receptoru.

Tvorený je z 839 aminokyselín. Syntéza funkčných domén týchto aminokyselín je regulovaná spätnou väzbou, ktorá na krátkom ramienku chromozómu 19 kontroluje prepis (transkripciu) génu pre LDL- receptor. Transkripcia je závislá od koncentrácií cholesterolu vo vnútri bunky. LDL receptor poskytuje bunke potrebné množstvo cholesterolu (Šamánek, Urbanová 2003, Češka a kol., 2012).

### **Scavengerový LDL- receptor**

Scavengerové receptory pri nedostatku funkčných LDL- receptorov viažu acetylované a oxidované aterogénne LDL- častice. Tieto receptory sa nachádzajú na makrofágoch (Šamánek, Urbanová 2003).

### **Receptor chylomikrónových remnantov**

Tieto receptory rozpoznávajú len apoE a zvyšky sú odstraňované z krvnej plazmy pomocou špecifických receptorov, ktoré sa nachádzajú v pečeni (Šamánek, Urbanová 2003).

### **Receptory pre HDL**

Rovnako ako receptory chylomikrónových remnantov sa nachádzajú v pečeni ale rozpoznávajú apolipoproteín A-I (Šamánek, Urbanová 2003).

### **Enzýmy a transportné proteíny zúčastňujúce sa na metabolizme lipoproteínov**

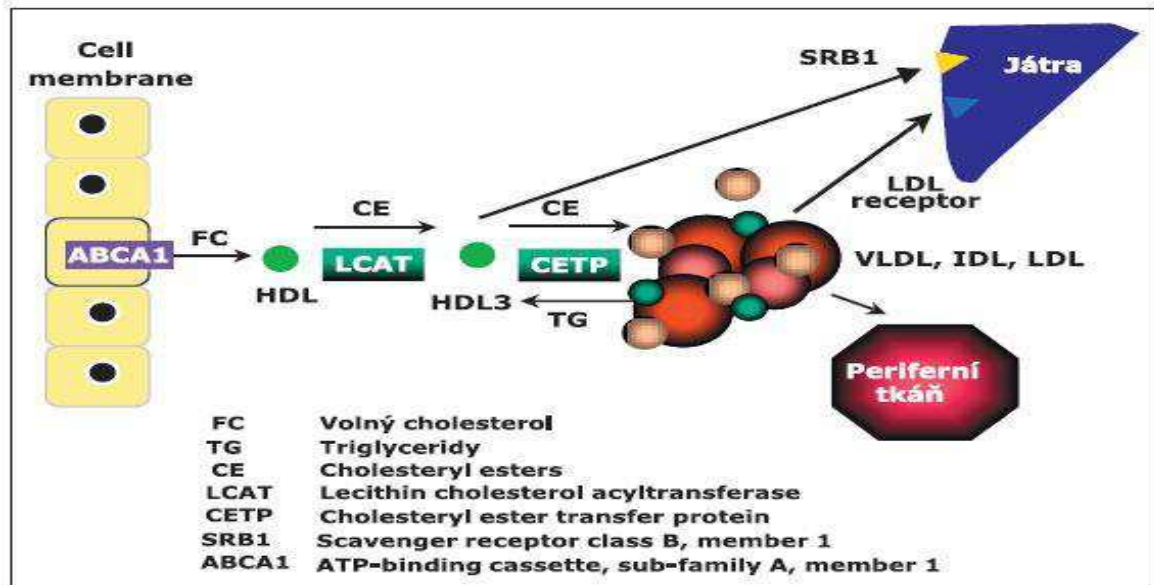
Enzýmy: lecitín-cholesterol-acyl-transferáza, pečeňová lipáza, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-reduktáza, lipoproteínová lipáza, fosfolipáza A, kyslá lipáza (Češka a kol.,2012).

Transportné proteíny: proteín prenášajúci fosfolipidy a estery cholesterolu a proteín inhibujúci prenos resp. transport lipidov (Šamánek, Urbanová, 2003).



## Cholesteryl ester transfer protein (CETP)

CETP má hlavnú funkciu v reverznom transporte cholesterolu.



**Obr. č. 8:** ([http://zdravi.euro.cz/news/check-pro?id=459230&seo\\_name=postgradualni-medicina](http://zdravi.euro.cz/news/check-pro?id=459230&seo_name=postgradualni-medicina), 25.1.2017)

### Metabolizmus lipoproteínov

Metabolizmus LP môžeme rozdeliť na endogénny transport lipidov a exogénny metabolizmus lipidov.

Cholesterol, ktorý je prijatý potravou prechádza cez stenu tráviacej sústavy a do tenkého čreva sa resorbuje nezmenený. Takýto sa dostáva do pečeni, kde prebieha jeho esterifikácia pod kontrolou LCAT.

TG sa pôsobením pankreatickej lipázy (PL) hydrolyticky rozkladajú na glycerol a VMK. Tento proces trávenia TG prebieha v dvanástniku. Predtým ako dochádza k tráveniu TG nastáva emulgifikácia tukov pôsobením žlčových kyselín. TG ktoré sa nerozložia prechádzajú v podobe malých kvapôčok cez črevnú stenu a utvárajú sa z nich chylomikróny a tie sa do krvného obehu dostávajú resp. transportujú z lymfatických ciev. Po hydrolýze TG lipoproteínovou lipázou sa mastné kyseliny dostávajú do svalového a tukového tkaniva kde plnia funkciu zásobárne energie. Špecifické receptory ktoré sa nachádzajú v pečeni vychytávajú chylomikrónové remnanty obohatené o cholesterol.

V hepatocytoch sa cholesterol metabolizuje na žlčové kyseliny a tie sa následne vylučujú žľou do tenkého čreva. TG spolu so zvyšným cholesterolom vytvoria častice VLDL a tie sa uvoľňujú do endogénnych metabolických ciest. V krvi sa VLDL delipidujú za

prítomnosti plazmatickej lipázy pričom sa uvoľnia MK a glycerol. Densita VLDL stále stúpa (vzrastá) až kým sa nepremenia na LDL častice, ktoré sú bohaté na cholesterol. Medziproduktom sú častice IDL. Vstupovať do buniek môžu iba častice LDL a ich vychytávanie umožňujú špecifické receptory pre apolipoproteín B, ktorých syntéza prebieha aktuálne podľa potreby ale majú genetický základ.

Priamo v pečeni sa tvoria častice HDL, vznikajú metabolizovaním LDL, stratou TAG a výmenou apoB za apoA a C (Varga, 1996).

## 2.6. Dyslipidémie

Dyslipoproteinémie (DLP) a hyperlipoproteinémie (HLP) sú ochorenia metabolického charakteru, ktoré sa vyznačujú vzostupom lipoproteínov a lipidov v krvnej plazme. Vznikajú pri zvýšení syntézy alebo znížení katabolizmu lipoproteínov transportujúcich lipidy (MK, TG, cholesterol, fosfolipidy) v plazme.

Hyperlipoproteinémie môžu byť:

- a.) Primárne ( na genetickej úrovni)
- b.) Sekundárne

Na vzniku, resp. manifestácií HLP a DLP sa väčšinou podieľa genetika (polygénová dedičnosť) a faktory vonkajšieho prostredia (nevhodná diéta, nedostatok pohybu, životný štýl) a niekedy aj ďalšie ochorenie ako napríklad hypotyreóza. Hovoríme o multifaktoriálnej etiológii.

**Tab. č. 3:** Hyperlipoproteinémie (HLP) alebo dyslipoproteinémie (DLP) ( Češka a kol., 2012).

<b>-metabolické ochorenia</b>
<b>-vysoký výskyt</b>
<b>-↑ TAG,CHM v krvnej plazme</b>
<b>-rizikový faktor vzniku aterosklerózy</b>
<b>-rizikový faktor akútnej pankreatitídy</b>

**Tab. č. 4:** HLP = zvýšená hladina tukov v krvi ( Češka a kol., 2012).

<b>-riziko kardiovaskulárnych ochorení</b>
<b>-tuky v krvi nemusia byť vo vzťahu k množstvu podkožného tuku</b>
<b>-HLP nie je obezita !!!</b>

HLP spôsobujú predovšetkým koronárnu aterosklerózu a manifestujú sa napríklad ischemickou chorobou srdca, akútnou hemoragickou nekrotizujúcou pankreatitídou či aterosklerózou periférnych tepien. Prebiehajú dlhé roky bez príznakov a diagnostikujú sa väčšinou až na základne iného ochorenia. HLP si netreba zamieňať s obezitou! Veľa pacientov trpiacich obezitou môžu mať lipidy v norme a naopak vysoké percento štíhlych pacientov majú familiárnu hypercholesterolémiu. Obezita sa avšak tiež môže podieľať na manifestácií a zhoršuje lipidový metabolizmus. (Češka a kol., 2012).

#### **Klasifikácia hyperlipoproteinémí**

##### **Klasifikácia podľa EAS**

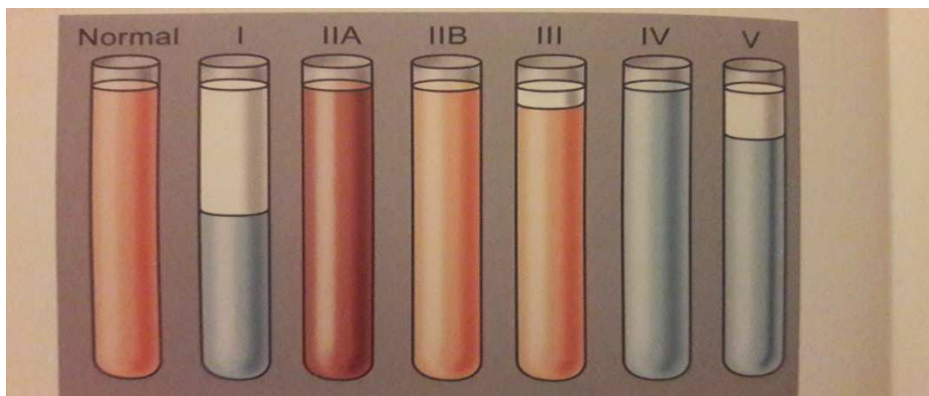
V súčasnosti je najpoužívanejším rozdelením HLP klasifikácia Európskej asociácií pre aterosklerózu a zaraďuje HPL do troch tried. Okrem týchto troch tried sa rozdeľujú aj na primárne a sekundárne HLP.

**Tab. č. 5:** HLP = Klasifikácia HLP (EAS 1992) ( Češka a kol., 2012).

<b>I.Hypercholesterolémia</b>	<b>LDL</b>
<b>II.Kombinovaná HLP, TAG+CHM</b>	<b>LDL + VLDL</b>
<b>III.Hypertriacylglycerolémie</b>	<b>VLDL</b>

## Fredricksonova klasifikácia

Prvým moderným prístupom v klasifikácii porúch metabolizmu lipidov bola Fredricksonova klasifikácia HLP ktorá je založená na elektroforéze lipoproteínov na papieri. Rozdeľuje HLP do 6 tried (viď. Tab. č. 6).



**Obr. č. 9** Vzhľad séra u hyperlipoproteinémií ( autor: Češka a kol., 2012).

**Tab. č. 6:** Klasifikácia dyslipidémií: Fredricksonova (WHO) klasifikácia( Češka a kol., 2012).

Fenotyp	Zvýšený LP	Cholesterol v sére	TG v sére	Aterogenicita	Prevalencia
I	Chylomikróny	norma - ↑	↑↑↑↑	Nepozorovaná	Vzácne
Ila	LDL	↑↑	norma	+++	Bežné
Ilb	LDL a VLDL	↑↑	↑↑	+++	Bežné
III	IDL	↑↑	↑↑↑	+++	Stredné
IV	VLDL	norma - ↑	↑↑	+	Bežné
V	VLDL a chylomikróny	norma - ↑	↑↑↑↑	+	Vzácne

LDL - lipoproteíny nízkej hustoty, IDL - intermediárne častice, VLDL – lipoproteíny veľmi nízkej hustoty. ( Hladiny HDL nie sú uvádzané vo Fredricksonovej klasifikácii).

**Typ I** - nachádzame u neho prstenec z chylomikrónov, po uchovaní plazmy v noci pri teplote 4 stupňoch Celzia, pod prstencom je číra plazma a nachádzame u nej zvýšenú hladinu triacylglycerolov.

**Typ IIa** - u neho nachádzame v elektroforéze ↑ beta lipoproteínov, pri normálnej koncentrácii triacylglycerolov ↑ LDL v plazme, tento typ je typický nález pri familiárnej hypercholesterolémii.

**Typ IIb** - charakteristické je ↑ triacylglycerolov a cholesterolu, VLDL, LDL. Zvyčajne pri kombinovanej familiárnej hyperlipidémii s vysokou koncentráciou apo B.

**Typ III** - charakterizovaný je tzv. pomalými prebeta frakciami, t.j. neobvyklá frakcia VLDL.

**Typ IV** - v plazme sú TG zvýšené, cholesterol je normálny alebo len mierne zvýšený.

**Typ V** - prebieha pod obrazom rapídneho ↑ TG, CHM, celkového cholesterolu, VLDL (Češka a kol., 2012).

## 2.7. Ateroskleróza

Najvýznamnejšia, komplexná, systémová, generalizovaná a obliterujúca choroba tepien u človeka sa nazýva ateroskleróza (Gavorník, 1999).

### Aterogenéza

Aterogenéza môže byť včasná a neskorá. Podieľajú sa na nej tieto faktory a mechanizmy:

- a.) vaskulárne poškodenie,
- b.) tvorba makrofágov a cytolýza, akumulácia monocytov,
- c.) hromadenie lipidov,
- d.) krvné doštičky, rastové faktory a trombogenéza,
- e.) tvorba hladkých svalových buniek,
- f.) tvorba extracelulárneho matrix . (Gavorník, 1999).

- a.) vaskulárne poškodenie

Pri tomto type je poškodená stena tepien. Spôsobuje ho mnoho faktorov napr. fajčenie, obezita, stres, alkohol, nedostatok pohybu atď. (Gavorník, 1999).

b.) akumulácia monocytov, tvorba makrofágov a cytolýza

Monocyty sa hromadia v subendotelových vrstvách ciev do ktorých infiltrujú cez endotel a a mechanizmom fagocytózy sa premieňajú na makrofágy a penové bunky. Jednou z najvčasnejších zmien aterosklerózy je výskyt monocytov v intíme. Na mechanizmoch migrácie a adhézie monocytov do steny artérie participujú glykoproteíny ktoré sa nachádzajú na povrchu monocytov a tiež faktory chemotaxie ako je napríklad monocytový chemotaktický proteín – 1 (MCP- 1).

Kritický membránový receptor je scavenger receptor, ktorý je zodpovedný za príjem LDL-cholesterolu v makrofágoch. Tento receptor konštantne prijíma modifikované, nízkodenzitné oxidované LP a aj iné LP do makrofágov. To vyvoláva cytolýzu resp. deštrukciu buniek s následným uvoľnením radikálov kyslíka a enzýmov (Gavorník, 1999).

c.) Hromadenie lipidov v arteriálnej stene (lipidogenéza)

Akumulácia cholesterolu a jeho esterov v stenách artérií je charakteristickým znakom včasnej aterosklerózy ako následok *dysbalancie influxu a exfluxu* cholesterolu.

Poznáme dva hlavné mechanizmy regulujúce vaskulárne hromadenie cholesterolu:

- aktívny mechanizmus, ktorý závisí od špecifických receptorov, ktoré sa nachádzajú v membráne arteriálnych, resp. tepnových buniek,
- pasívny mechanizmus ktorý nezávisí od týchto receptorov.

Znížená aktivita LDL- receptorov súvisí s vysokými koncentraciami LDL v krvi a tým vzniká predčasná ateroskleróza. Aterogénne sú aj VLDL, antiaterogénne sú HDL častice, ktoré inhibujú vstup LDL do bunky a umožňujú reverzný transport (*eflux*) cholesterolu zo steny ciev (Gavorník, 1999).

d.) Trombocyty, trombogenéza a rastové faktory

V mieste poškodenia vaskulárnej steny dochádza k adhézií až agregácií trombocytov a uvoľneniu látok, vrátane trombocytového rastového faktora ( PDGF- platelet- derived growth factor). Tento faktor stimuluje migráciu, hromadenie a proliferáciu hladkých svalových buniek, teda zväčšuje aterosklerotickú léziu (Gavorník, 1999).

## Proliferácia hladkých svalových buniek

Myocyty ( hladké svalové bunky) sú schopné vo vyvíjajúcich sa artériách syntetizovať a proliferovať kolagén, glykoproteíny a elastín ( syntetický typ).

Hlavnou funkciou hladkých svalových buniek v artériách u dospelého človeka je regulácia tlaku steny tepny ( kontraktilný účinok), niekedy sa môžu upraviť naspäť do syntetického typu a tak participovať na aterogenéze (Gavorník, 1999).

## e.) Syntéza extracelulárneho matrixu

Hladké svalstvo je stimulované viacerými rastovými faktormi a reguluje zvýšenú syntézu fibrózneho tkaniva v artériách pri ateroskleróze. Niektoré z rastových faktorov ktorými je hladké svalstvo regulované: fibroblastový rastový faktor – FGF (fibroblast cell growth factor), trombocytový rastový faktor PDGF , endotelový rastový faktor - EGF (endothelial-cell growth factor), makrofágový rastový faktor - MDGF (macrophage-derived growth factor), rastový faktor hladkého svalstva – SDGF (smooth-muscle-cell-derived growth factor) a iné (Gavorník, 1999).

Tkanivo aterosklerotických lézií sa skladá z fibrózne- bunkového, riedkeho a denzného fibrózneho väziva obsahujúceho kolagén, ktorý má trombogénne vlastnosti.

Tri základné stupne patologicko-anatomických zmien pri ateroskleróze (klasická klasifikácia):

1. Lipidové lézie- vďaka zvýšenému obsahu lipidov sú žltkastej farby, sú ploché, mäkké ložiská ( pláty, škvrnny).
2. Fibrózne- nastáva pri nich zmnoženie väziva a buniek hladkého svalstva, sú tuhé, sivé ložiská resp. pláty.
3. Komplikované lézie- zmena nenastáva len v intime artérie ale ide o aterosklerotické pláty kde nastáva zmena aj v médiis ruptúrou, kalcifikáciami, nekrózou, trombózou a ďalšími zmenami (Gavorník, 1999).

Staryho klasifikácia (1989):

- I. typ - makroskopicky nezistiteľný, mikroskopicky v intime nachádzame väčší počet makrofágov, ktoré pochádzajú z monocytov a v ich cytoplazme sa nachádzajú častice oxidovaných lipidov.
- II. typ - zistiteľný makroskopicky pomocou farbenia Sudanovou IV. mikroskopicky v intime nachádzame penové bunky ktoré sú už pre

aterosklerózu charakteristické. Lipidy sú uložené prevažne intracelulárne.

- III. typ - makroskopicky vyvýšené tukové pláty. Mikroskopicky extracelulárne ložiská lipidov.
- IV. typ - nahromadené lipidy mimo bunku sa javia ako ateróm ktorý je viditeľný resp. zistiteľný makroskopicky aj mikroskopicky.
- V. typ - fibrolipidová lézia (lipidové jadro + fibrózny kryt ) (Gavorník, 1999).

### **Neskorá aterogenéza**

Niektoré aterosklerotické lézie podmieňujú fixnú stenózu postihnutých tepien a sú aj niekoľko rokov stabilné na rozdiel od pomaly progredujúcich aterosklerotických lézií. Porušenie integrity resp. celistvosti aterosklerotickej lézie sa mení na tzv. komplikovanú instabilnú aterosklerotickú léziu. Tento dej je podmienený vznikom fisúr, ruptúr alebo ulceráciou fibrózneho krytu. Vznikajú tromby a tým nastáva dynamická obštrukcia artérie (Gavorník, 1999).

### **Rizikové faktory rozvoja aterosklerózy.**

Ateroskleróza a jej komplikácie sú najčastejšou príčinou kardiovaskulárnych ochorení. V patogenéze týchto ochorení sa uplatňujú niektoré rizikové faktory ktoré podporujú trombogézu a aterogézu. Tieto faktory môžeme rozdeliť na neovplyvniteľné ako sú napríklad starnutie, pozitívna rodinná anamnéza- výskyt v rodine, mužské pohlavie atď.) a na faktory ktoré sú ovplyvniteľné, sem patrí väčšina laboratórnych faktorov ale aj fajčenie, stres a iné (Racek et al., 1999).

#### **A. Endogénne (neovplyvniteľné) faktory**

- pohlavie – žena po menopauze, muž
- vek
- genetika ( rodinná anamnéza, výskyt v rodine)

#### **B. Exogénne ( ovplyvniteľné) faktory**

- nedostatok pohybovej aktivity
- nadmerné užívanie alkoholu
- deficit stopových prvkov
- zvýšená hemokoagulácia



- dyslipoproteinémie
- fajčenie
- obezita, nadváha
- rezistencia na inzulín
- typ osobnosti
- cukrovka – Diabetes mellitus
- hyperurikémia
- znížená fibrinolýza atď ( Gavorník,1999).

### Prevenca aterosklerózy

Zvýšenie hladiny krvných tukov ovplyvňuje nepriaznivo naše zdravie. Liečba aterosklerózy je úspešná len výnimočne. Dôležitá je kontrola rizikových faktorov a zmeny životného štýlu. Zvýšiť fyzickú aktivitu u ľudí ktorí trpia nadváhou, obezitou, obmedziť príjem nasýtených mastných kyselín a tučných jedál a samozrejme nefajčiť.

Znížiť hladinu krvných tukov môžeme napríklad pravidelným pohybom, zvýšením príjmom vlákniny v potrave, vyhýbaním sa nadmernému stresu každodenného života (Pospisilová, 2000, Goncalvesová, 2012).

**Tab. č. 7:** ( Goncalvesová, 2012).

Celkový cholesterol	5,0 mmol/l	nižšie hodnoty – normálne
Triacylglyceroly	2,0 mmol/l	Ideálne sú hodnoty pod 1,7 mmol/l, zvýšené hladiny triacylglycerolov nachádzame u diabetikov a obéznych pacientov.
LDL- cholesterol	3,0 mmol/l	pacienti ktorí majú aspoň dva rizikové faktory by mali mať hodnotu LDL- c pod 2,5 a u vysokorizikových by mala byť hodnota pod 1,8 mmol/ l.
HDL- cholesterol	1,0 mmol/l	HDL je antiaterogénny takže čím vyššia je jeho hladina tým nižšie je riziko vzniku aterosklerózy.

## 3 PRAKTICKÁ ČASŤ

### 3.1. Materiál a metódy

Na spracovanie praktickej časti bakalárskej práce sme použili súbor 50 náhodne vybratých nemocničných resp. patientskych vzoriek. Používalo sa sérum ktoré sa získalo po 12hodinovom hladovaní a za podmienok že pacient bol pred odberom nalačno, bez námahy, pri odbere v sede a krv bola odobratá z kubitálnej vény bez venostázy. Odbery sa robili do jednorázových odberových nádob firmy SARSTEDT. Ďalej sme získali krvnú plazmu centrifugáciou (10 min., 3000 ot./min.). Vzorky sme v ten istý deň analyzovali na analyzátoch AU 5800. Stanovovali sa parametre celkový cholesterol, TAG, HDL cholesterol, LDL- cholesterol (priama metóda) a dopočítavali sa hodnoty LDL cholesterolu (nepriama metóda, výpočet podľa Friedewalda) a aterogénneho indexu ( $AI = \text{celkový cholesterol} / \text{HDL cholesterol}$ ). Počet analyzovaných vzoriek bol 50, súbor tvorili muži ( $n=22$ ) aj ženy ( $n=28$ ).

#### Priama metóda stanovenia

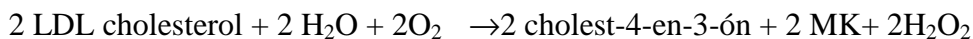
Priamemu stanoveniu cholesterolu lipoproteínových frakcií LDL sa v súčasnosti prikladá čoraz väčší význam. Výhodou tohto typu stanovenia je eliminácia chýb súvisiacich s manuálnymi činnosťami vznikajúcimi pri centrifugácii a pri pipetovaní patientskych vzoriek. Výhody priameho stanovenia spočívajú nielen v menšom počte chýb v analytickom procese, ale aj s možnosťou automatizácie merania a jeho rýchlejšej dostupnosti.

Priame stanovenie LDL cholesterolu je založené na odstránení vplyvu cholesterolu, ktorý pochádza z lipoproteínových častíc ich stabilizáciou špeciálnym detergentom, ktorý rozpúšťa iba častice non- LDL charakteru. Cholesterol, ktorý je uvoľňovaný z HDL, chylomikrónov a VLDL je spotrebovaný pôsobením cholesterol esterázy a cholesterol oxidázy a vzniká bezfarebný produkt. Druhým krokom reakcie je reakcia LDL s ďalším detergentom, ktorý naruší jej štruktúru a uvoľnený cholesterol následne reaguje s enzýmami za prítomnosti chromogénu pričom vzniká farebný produkt.

### Princíp reakcie:

Ide vlastne o enzymatický farebný test na kvantitatívne stanovenie LDL- cholesterolu v ľudskom sére a v plazme na AU analyzátoroch firmy Beckman Coulter.

CHE a CHO



**Tab. č. 8:** Koncentrácia roztokov a reagensí

Roztoky a reagensie	koncentrácia
Cholesterol esteráza	3,7 IU/MI
Cholesterol oxidáza	3,7 IU/mL
Azid sodný	0,1 %
4- aminoantipyrín	0,8 mmol/L
Goodov pufor (pH 6,8)	25 mmol/L
HDAOS	0,47 mmol/L
Kataláza	743 IU/mL
Detergenty	

Roztoky resp. činidlá sú pripravené na priame použitie, skladovanie je pri 2- 8 stupňoch Celsia, stabilita roztokov v prístroji je 30dní.

### Kalibrácia

LDL- Cholesterol Calibrator ODC0012.

Pokiaľ dôjde k závažnejšej preventívnej údržbe analyzátoru alebo je výrazná zmena kontrolných hodnôt je potrebné kontrolu prekalibrovať každých 30 dní a blankovanie každých 7 dní.

### Kontrola kvality

Každé laboratórium má stanovenú vlastnú kontrolnú frekvenciu. Testovanie kontrol je potrebné robiť každý deň. Pri stanovení LDL cholesterolu sa ako kontrolný materiál používa HDL/LDL – Cholesterol Control Serum ODC0005. (zdroj: leták k diagnostickej súprave firmy Beckman Coulter).

## **Nepriama metóda stanovenia**

Pod pojmom nepriama metóda stanovenia LDL- cholesterolu rozumieme stanovenie LDL cholesterolu výpočtom. Vo väčšine laboratórií sa rutinne stanovujú koncentrácie celkového cholesterolu, TAG a HDL cholesterolu, pričom hodnoty LDL cholesterolu sa dopočítavajú z rovnice podľa Friedewalda z uvedeného vzťahu:  $LDL-C \text{ (mmol/l)} = TC - (HDL-C + TG/2,2)$  (Dzúrik a kol.,1996).

TC, HDL-C a TG sme v našej práci analyzovali enzýmovými súpravami výrobcu Beckman- Coulter.

Tento spôsob výpočtu má tiež určité obmedzenia a to ak hladina TG je vyššia ako 4,6 mmol/l tak LDL cholesterol získaný takýmto výpočtom stráca validitu.

## **Štatistická analýza**

Výsledky laboratórnych analýz sme hodnotili dvojvýberovým párovým t- testom a korelačnou analýzou. Za štatisticky významné sme považovali rozdiely na hladine významnosti  $P < 0,05$ .

## **3.2. Výsledky**

Kvantitatívne sme určili hladiny LDL-C priamou metódou a metódou nepriamou, t. j. za pomoci výpočtu podľa Friedewalda v 50 čerstvých sérach náhodne vybraných pacientov vyšetrených vo FNsP v Banskej Bystrici. Prvou podmienkou pre zaradenia pacientov do súboru boli súbežne určené hladiny TC, HDL-C a TG. Druhou podmienkou, ktorú vyžaduje správne stanovenie LDL-C cez výpočet podľa Friedewalda, boli hladiny TG < 4,6 mmol/l vo všetkých vzorkách.

Pri porovnávaní výsledkov priamej a nepriamej metódy stanovenia LDL-C sme vyšetované vzorky zoskupili podľa nami zvolených intervalov hladín TC resp. TG, nakoľko sme predpokladali, že výsledky porovnávaných metód môžu byť ovplyvnené rôznou koncentráciou TC a TG v sére.

Tab. č. 9 znázorňuje skupinové priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky LDL- C kvantifikované za pomoci priamej a nepriamej metódy (podľa Friedewalda) v závislosti od rôznej koncentrácie TC v sére.

**Tab. č. 9:** Porovnanie priamej a nepriamej metódy (podľa Friedewalda) stanovenia LDL cholesterolu v závislosti od rôznej koncentrácie celkového cholesterolu

TC mmol/l	n	priama metóda	podľa Friedewalda	Δ %	t-test
< 4	6	1,46 ± 0,46*	2,12 ± 0,40	+45,2	0,003
4 – 5	19	2,48 ± 0,39	2,90 ± 0,38	+16,9	< 0,001
> 5	25	3,73 ± 0,65	4,15 ± 0,57	+11,3	< 0,001
Spolu	50	3,01 ± 0,94	3,43 ± 0,90	+14,0	< 0,001

\* Hodnoty sú uvedené ako priemer ± smerodajná odchýlka

Priemerné hodnoty LDL-C určené metódou podľa Friedewalda sú v každom intervale hladín TC podľa výsledkov párového t- testu štatisticky vysoko významne vyššie ( $P \leq 0,003$ ) ako priemerné hodnoty získané priamou metódou. Pri porovnaní relatívnych rozdielov je najvyššia odchýlka medzi obidvomi metódami pri  $TC < 4,0$  mmol/l (+45,2 %) a najmenšia (+11,3 %) v intervale zvýšených hladín TC ( $TC > 5,0$  mmol/l). Ak by sme posudzovali relatívny rozdiel LDL- C medzi metódami v celom súbore, tak nepriama metóda má v porovnaní s priamou metódou hodnoty LDL- C vyššie o 14,0 %.

Podobný postup sme zvolili pri skúmaní vplyvu hladín TG na výsledky vyšetrení LDL- C obidvoch porovnávaných metód. Vzorok sme rozdelili podľa obsahu TG v sére: znížené ( $TG < 1,0$  mmol/l), normálne ( $TG 1 - 2$  mmol/l) a zvýšené ( $TG > 2$  mmol/l). Výsledky porovnania sú uvedené v tab. č. 10

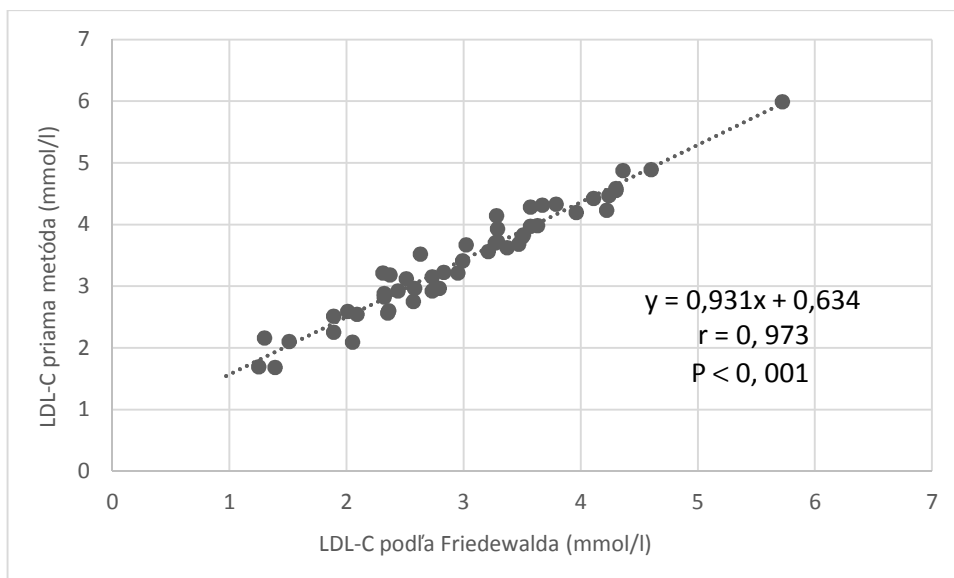
**Tab. č. 10:** Porovnanie priamej a nepriamej metódy (podľa Friedewalda) stanovenia LDL cholesterolu v závislosti od rôznej koncentrácie triacylglycerolov

TG mmol/l	n	priama metóda	podľa Friedewalda	Δ %	t-test
< 1	8	2,60 ± 1,04*	2,86 ± 0,96	+10,0	0,001
1 – 2	28	3,02 ± 0,83	3,40 ± 0,75	+12,6	< 0,001
> 2	14	3,21 ± 1,09	3,83 ± 1,01	+19,3	< 0,001

\* Hodnoty sú uvedené ako priemer ± smerodajná odchýlka

Priemerné hodnoty LDL- C určené metódou podľa Friedewalda sú v každom intervale hladín TG podľa výsledkov párového t- testu štatisticky vysoko významne vyššie ( $P \leq 0,001$ ) ako priemerné hodnoty získané priamou metódou. Pri porovnaní relatívnych rozdielov je najvyššia odchýlka medzi obidvomi metódami pri  $TG > 2,0$  mmol/l (+19,3 %) a najmenšia (+10,0 %) v intervale znížených hladín TG ( $TG < 1,0$  mmol/l). Trend relatívnych rozdielov vo výsledkoch obidvoch LDL- C metód v závislosti od TG je obrátený ako bol u TC a zároveň veľkosť relatívneho rozdielu medzi zníženými a zvýšenými hladinami je približne 4-násobne nižšia.

V ďalšom kroku sme porovnali výsledky LDL- C dosiahnuté obidvomi metódami postupom, ktorý sa obecné nazýva korelačná analýza. Ako nezávisle premenné „x“ sme vyniesli na os „x“ výsledky metódy podľa Friedewalda, zatiaľ čo výsledky LDL- C priamej metódy boli vynesené na os „y“. Grafické znázornenie lineárneho vzťahu obidvoch metód je na Grafe č. 1.



**Graf č. 1** Vzťah medzi priamou metódou LDL cholesterolu a metódou podľa Friedewalda; korelačný koeficient  $r = 0,973$ .

Obidve metódy vykazujú veľmi tesnú koreláciu ( $r = 0,976$ ,  $P < 0,001$ ), a to aj napriek tomu, že tak TC ako aj TG ovplyvňujú rozdiely LDL- C v oboch metódach. Obidve metódy veľmi citlivo súbežne reagujú na zmenu koncentrácie LDL- C v širokom rozsahu. Posledný krok vo výsledkovej časti je porovnanie oboch metód LDL- C z hľadiska identifikácie pacientov s rôznym stupňom rizika kardiovaskulárneho ochorenia. Podľa odporúčaní viacerých odborných spoločností, diagnostika a sledovanie úspešnosti liečby pacientov so zvýšenými hladinami TC, ktorí majú sklon napr. k infarktu myokardu, sa opiera o stanovenie LDL- C.

Pri tomto porovnaní sme hladiny LDL- C rozdelili do odporúčaných skupín a na základe stanovených hladín LDL- C obojmi metódami vypočítali zastúpenie pacientov v jednotlivých skupinách s rôznou mierou rizika kardiovaskulárneho ochorenia (Tab. č. 11).

**Tab. č. 11:** Kategorizácia hladín LDL cholesterolu podľa miery rizika na základe výsledkov priamej a nepriamej metódy (podľa Friedewalda)

<b>Kategória</b>	<b>LDL-C mmol/l</b>	<b>priama metóda N (%)</b>	<b>podľa Friedewalda N (%)</b>	<b><math>\chi^2</math>-test</b>
Normálne	<2,6	18 (36)	9 (18)	0,04
Hranične normálne	2,6–3,3	15 (30 )	15 (30 )	n. s.
Hranične vysoké	3,3 – 4,1	10 (20)	13 (26)	n. s.
Vysoké	4,1 – 4,9	7 (14)	12 (24)	n. s.
Veľmi vysoké	> 4,9	0 (0)	1 (2)	n. s.

n. s. = štatisticky nevýznamný

Z tabuľky je zrejmé, že obidve metódy sa štatisticky významne ( $P = 0,04$ ) odlišujú iba v intervale normálnych hodnôt LDL- C ( $LDL- C < 2,6$  mmol/l). Priama metóda identifikovala v tejto skupine 36 % pacientov, zatiaľ čo nepriama metóda spomedzi tých istých pacientov identifikovala v kategórii „Normálne“ iba 18 % pacientov. Trend, hoci nie štatisticky významný, naznačuje, že metóda podľa Friedewalda vykazuje viac zaradených pacientov v kategórii s rizikom „hranične vysoké až veľmi vysoké“.



## 4 DISKUSIA

Cieľom praktickej časti práce bolo porovnanie dvoch používaných metód na stanovenie LDL-C, ktoré sa často používajú v biochemických laboratóriách. Stanovenie LDL-C získalo na význame potom, čo komisia expertov v projekte Národný cholesterolový edukačný program v USA povýšila LDL-C za rozhodujúcu frakciu pri vyhľadávaní, diagnostike a liečbe hypercholesterolémie (NCEP, 2002).

V súčasnosti sa používajú dva celkom rozdielne prístupy pri rutinnom kvantitatívnom vyšetrení LDL-C. Staršia metóda – využívajúca výpočet podľa Friedewalda – je postupne nahrádzaná novším typom metód tzv. priamych metód, ktoré na stanovenie LDL-C využívajú rozdielnu rozpustnosť lipoproteínových frakcií po pridaní detergentov rôznej iónovej sily. Tieto metódy sa považujú za správnejšie ako nepriama metóda, ktorá je založená na výpočte z TC, HDL-C a TG. Navyše, výhodou novších metód je možnosť automatizácie a vyšetrenie veľkého počtu vzoriek s priamym stanovením LDL-C v relatívne krátkom čase. Priama metóda, ktorú sme na porovnanie použili, je komerčná súprava LDL-C od výrobcu Beckman- Coulter Inc. (Brea, CA, USA).

Hlavným výsledkom praktickej časti je zistenie, že výsledky LDL-C určené za pomoci nepriamej metódy sú štatisticky významne vyššie ako výsledky LDL-C z priamej metódy. Veľkosť relatívneho rozdielu LDL-C medzi porovnávanými metódami je významne ovplyvnená výškou hladiny TC i TG (aj za predpokladu, že sme porovnávali iba vzorky s obsahom TG < 4,5 mmol/l). Zaujímavým zistením bolo, že čím vyššie boli hladiny TG, tým väčšie boli rozdiely LDL-C medzi nepriamou a priamou metódou. Rozšírením nášho zistenia sa dá oprávnene predpokladať, že hladiny TG vyššie ako 4,5 mmol/l zapríčiňujú už neprijateľné nadhodnotenie skutočnej koncentrácie LDL- C. Všeobecne, práve táto hladina TG sa považuje za najvyššie možnú pri výpočte LDL- C (Friedewald, Levy a Fredrickson, 1972).

TC a jeho obsah v sére mali v porovnaní s TG opačný vplyv na veľkosť relatívneho rozdielu medzi výsledkami LDL- C obidvoch metód. Nepriama metóda poskytovala pri nízkych hladinách TC totiž najväčšie odchýlky od priamej metódy LDL- C stanovenia a pri vyšších hladinách TC identifikovala – v porovnaní s priamou metódou – väčší podiel pacientov v rizikovejších kategóriách LDL- C. Podľa všetkého, riziko časti z nich je falošne pozitívne, čo môže u dotknutých pacientov vyvolať zbytočnú psychickú záťaž a zároveň ďalšími vyšetreniami zaťažovať zdravotnícky systém. Z tohto pohľadu je určite

vhodnejšie priame stanovenie LDL- C a navyše priame stanovenie – v porovnaní s nepriamym – nie je obmedzované zvýšenou hladinou TG.

Obidve metódy síce vynikajúco navzájom korelujú, ale výsledky párových porovnaní rozdielov LDL-C boli štatisticky vysoko významne odlišné. Tento fakt je rozhodujúci na prijatie kľúčového záveru, že obidve porovnávané metódy sú vo výsledkoch rozdielne a nemožno u pacienta striedavo monitorovať hladiny LDL- C obidvomi metódami.

## 5 ZÁVERY

1. Hodnoty LDL- C stanovené nepriamou metódou sú význame vyššie ako LDL- C stanovený priamou metódou.
2. Nepriama metóda je výrazne ovplyvňovaná koncentráciou TC a TG.
3. Medzi obidvomi metódami je tesný lineárny vzťah podporený vysokým korelačným koeficientom.
4. Na vyhľadávanie, diagnostiku a monitorovanie pacientov s hypercholesterolémiou je vhodnejšie používať priamu metódu stanovenia LDL- C.

## 6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

ČEŠKA, R. a kol. 2012. *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. Praha: Triton, 2012. 406 s. ISBN 978-80-7387-599-2.

DZÚRIK, R. a kol. 1996. *Štandardná klinicko- biochemická diagnostika*. Osveta, 2.vyd. 464 s. ISBN 80-217-0256-7.

FRIEDEWALD, W.T., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S.: *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge*. Clin Chem 1972; 18 (6): 499-502.

GAŠKO, R. – CORDOVA, C. M. M. – KLÍMOVÁ, E. – HEFLER, C. M. R. – SCHOONJANS, F. 2005. *LDL- cholesterol 2005- porovnávacie štúdiá stanovenia metódou Friedewaldovho vzorca a priamou metódou Wako: dizajn štúdie a základné závery*. [online], Klin. Biochem. Metab., 13 (34), 2005, No. 4, p. 190-196. Dostupné na internete [14.3.2017] : <http://nts.prolekare.cz/cls/odkazy/KBM20054-190.pdf>.

GAVORNÍK, P. 1999. *Ateroskleróza a iné choroby tepien*. Vydala Univerzita Komenského v Bratislave vo vydavateľstve UK, 216 s. ISBN 80-223-1422-6.

GONCALVESOVÁ, E. 2012. *Zvýšený cholesterol a rizikové faktory chorôb srdca a ciev*. Herba, 15 s. ISBN 978-80-89 171-85-9.

JEDLIČKA, J. 2009. *Zdravý životný štýl*. 1.vyd. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 315 s. ISBN 978-80-552-0295-2.

KATZ, L. D. 2010. *Ako zvládnuť cholesterol*. Vydal Reader's Digest Slovensko, 116 publikácia, 1.vyd. 256 s. ISBN 978-80-8097-055-0.

KOLLÁR, J. 1996. *Lipidy a lipoproteíny*. Košice: Ústav experimentálnej medicíny LF UPJŠ, 1996. 312s. ISBN 80-967388-7-9.

MURRAY, K. R. – BENDER, D. A. – KENNELLY, P. J. – RODWELL, V. W. – WEIL, P. A. 2012. *Harperova ilustrovaná biochemie*. 1.vyd. Praha: Galén, 730 s. ISBN 978-80-7262-907-7.

NCEP. *National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.

POSPISILOVÁ, E. 2000. *Cholesterol Riziko srdcovo- cievnych chorôb*. Media klub, 88 s. ISBN 80-88963-57-5.

RACEK, J. et al. 1999. *Klinická biochemie*. Praha: Galén, 1999. 317 s. ISBN 80-7262-023-1.

RNDr. PAVEL NEZBEDA: *Lipidy 2017*. CEVA [online] 23. leden 2017 , poslední aktualizace 23. leden 2017 [cit. ]. Dostupný na internete: <http://www.ceva-edu.cz/course/view.php?id=439>. ISSN 1803-8999.

ŠAMÁNEK, M. – URBANOVÁ, Z. 2003. *Prevence aterosklerózy v dětském věku*. 1.vyd. Galén, 235 s. ISBN 80-7262-229-3.

VARGA, F. 1996. *Klinická biochémiá*. Martin: Osveta, 1996. 373 s. ISBN 80-217-0445-4.

### **Internetové zdroje :**

<http://developinghealthyhabits.com/cholesterol-blessing-or-curse/> [20.1.2017]

<http://galenus.cz/clanky/biochemie/biochemie-lipidy-synteza-cholesterolu> [2.2.2017]

[http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEN%20A-I%20\(ApoA-I\).pdf](http://www.adla.sk/images/upload/Klinick%C3%A1%20bioch%C3%A9mia/APOLIPOPROTEN%20A-I%20(ApoA-I).pdf) [17.11.2016]

<http://www.bodyhacking.cz/blog/cholesterol-najznamejsia-najmenej-znama-molekula.html> [17.11.2016]

<http://www.lipidy.estranky.sk/clanky/biologicky-vyznam-a-funkcia/funkcie-lipidov-.html> [17.11.2016]

<http://www.shrinkinguy.com/blog/how-healthy-is-your-blood> [20.1.2017]

[http://zdravi.euro.cz/news/check-pro?id=459230&seo\\_name=postgradualni-medicina](http://zdravi.euro.cz/news/check-pro?id=459230&seo_name=postgradualni-medicina)  
[25.1.2017]

<https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/2491> [17.11.2016]

[https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1975/cornforth-bio.html](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1975/cornforth-bio.html)  
[2.2.2017]

## 7 PRÍLOHA

**Tab. č. 12:** Hodnoty parametrov lipidového metabolizmu v celom súbore (n=50)

Poradové číslo	M/F	CHOL	TAG	HDL- p	AI	LDL- vyp.	LDL- p
1	M	5,5	1,24	1,31	4,2	3,63	3,98
2	M	5,0	2,82	1,41	3,5	2,31	3,21
3	M	5,6	0,98	1,68	3,3	3,47	3,68
4	F	4,3	2,14	0,96	4,5	2,37	3,18
5	M	4,3	0,68	1,42	3,0	2,57	2,75
6	F	5,9	2,06	1,17	5,0	3,79	4,33
7	F	4,5	1,67	1,23	3,7	2,51	3,12
8	F	4,1	1,67	1,45	2,8	1,89	2,51
9	F	6,0	2,52	1,57	3,8	3,28	4,14
10	M	3,4	1,64	1,14	3,0	1,51	2,10
11	M	5,0	1,28	1,05	4,8	3,37	3,62
12	M	6,7	1,84	1,26	5,3	4,60	4,89
13	F	5,6	1,49	1,42	3,9	3,50	3,80
14	M	6,3	1,56	1,29	4,9	4,30	4,58
15	F	5,5	1,26	1,42	3,9	3,51	3,83
16	F	4,2	0,46	1,26	3,3	2,73	2,92
17	F	6,4	0,98	1,73	3,7	4,22	4,23
18	M	5,2	1,59	1,27	4,1	3,21	3,56
19	F	4,6	1,43	1,22	3,8	2,73	3,15
20	M	6,2	1,77	1,29	4,8	4,11	4,42
21	F	6,4	0,79	2,75	2,3	3,29	3,72
22	F	4,3	2,23	1,24	3,5	2,05	2,09
23	M	5,5	1,73	1,44	3,8	3,27	3,70
24	F	4,0	0,52	1,87	2,1	1,89	2,25
25	F	6,1	2,07	1,58	3,9	3,57	4,28

26	M	3,2	0,5	1,55	2,1	1,39	1,68
27	F	4,2	1,34	1,58	2,7	2,35	2,56
28	F	7,1	1,45	2,14	3,3	4,3	4,55
29	M	4,0	1,79	1,18	3,4	2,01	2,59
30	M	5,1	2,89	1,16	4,4	2,63	3,52
31	F	3,7	1,26	0,77	4,8	2,36	2,60
32	F	4,8	1,71	1,70	2,8	2,32	2,88
33	M	5,6	2,14	1,06	5,3	3,57	3,97
34	M	3,3	2,34	0,94	3,5	1,30	2,16
35	F	5,4	1,21	2,02	2,7	2,83	3,22
36	F	5,9	2,77	1,35	4,4	3,29	3,93
37	F	6,1	1,70	1,50	4,1	3,96	4,19
38	F	8,0	2,35	1,21	6,6	5,72	5,99
39	M	7,0	2,96	1,29	5,4	4,36	4,87
40	M	3,8	1,55	1,01	3,8	2,09	2,54
41	M	2,6	0,71	1,03	2,5	1,25	1,69
42	M	4,4	1,08	0,96	4,6	2,95	3,21
43	F	5,3	2,75	1,03	5,1	3,02	3,67
44	F	4,2	1,78	0,95	4,4	2,44	2,92
45	F	5,0	1,51	1,32	3,8	2,99	3,41
46	F	6,8	1,12	2,05	3,3	4,24	4,47
47	F	4,3	1,35	1,37	3,1	2,32	2,82
48	M	4,2	1,41	0,98	4,3	2,58	2,96
49	M	4,1	1,49	0,63	6,5	2,79	2,96
50	F	6,1	2,22	1,42	4,3	3,67	4,31

\*hodnoty sú v mmol/l (okrem AI)