

# Stanovení cholesterolu v séru

## Úvod

Problematika poruch lipidového metabolismu je v popředí zájmu především v souvislosti s prevencí a léčbou kardiovaskulárních onemocnění.

Základní lipidové vyšetření zahrnuje analýzu triacylglycerolů, celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a z nich vypočtené non-HDL cholesterol, případně aterogenní index. Vyšetření může být doplněno analýzou apolipoproteinu B, lipoproteinu Lp(a), poměru apoB/apo A1 a elektroforézou lipoproteinů.

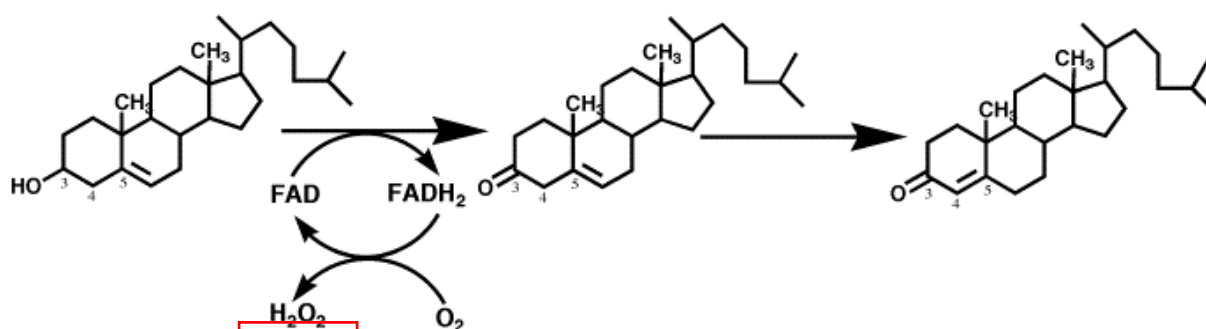
## 1. Enzymové stanovení celkového cholesterolu v séru

Cholesterol je v krevní plazmě transportován jako součást lipoproteinů, z největší části ve frakci LDL, méně v HDL a VLDL. Z tohoto cholesterolu jsou přibližně dvě třetiny esterifikovány vyššími mastnými kyselinami, zbytek je neesterifikován.

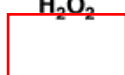
### Princip

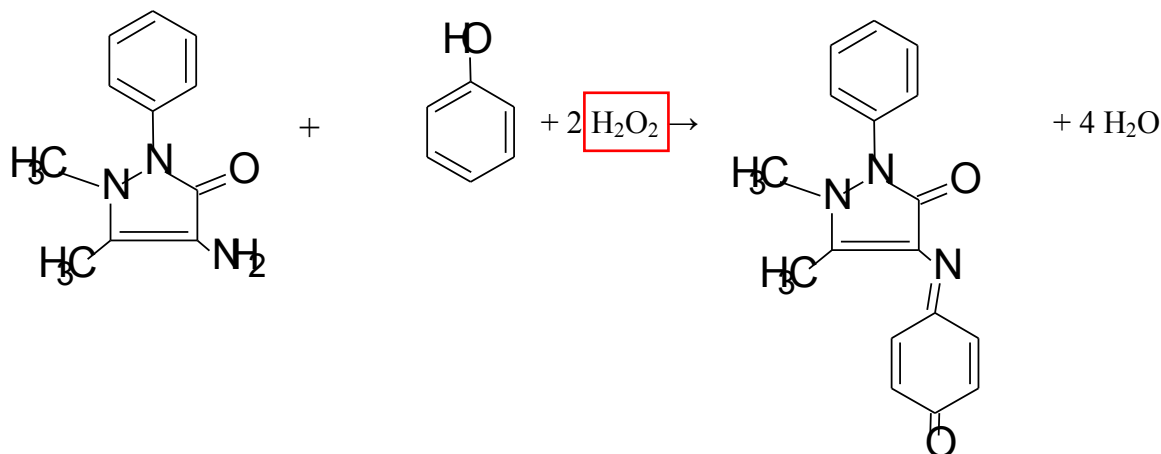
Estery cholesterolu jsou štěpeny cholesterolesterázou na cholesterol a mastnou kyselinu. Cholesterol je pak dalším enzymem cholesteroxidázou oxidován na cholestenon. Současně vzniká peroxid vodíku, který za katalýzy peroxidázou reaguje s 4-aminofenazonem (4-aminoantipyrinem) a fenolem na červeně zbarvený produkt. Spřažení reakcí, při kterých vzniká peroxid vodíku, s následnou peroxidázovou reakcí s aminofenazonem je jeden z častých principů stanovení analytů v klinické biochemii.

- Napište rovnici reakce, kterou katalyzuje cholesterolesteráza.



Následující reakce:





**Materiál:** Set CHOL 250 firmy Erba Lachema\*: Činidlo-cholesterol (obsahující Goodův pufr 50 mmol/l, pH 6,7; 4-aminoantipyrin (4AAP) 0,3 mmol/l; fenol 5 mmol/l; cholesterolsteráza  $\geq 3,33 \mu\text{kat/l}$ ; cholesteroloxidáza  $\geq 0,83 \mu\text{kat/l}$ ; peroxidáza  $\geq 50 \mu\text{kat/l}$ ). Kalibrátor-cholesterol (o známé koncentraci), vzorky krevních sér, spektrofotometr. \* Alternativně mohou být použity testy firmy BioVendor, Roche Diagnostics, pak složení činidla je odlišné.

- Vysvětlete význam všech reagensů.

## Hodnocení

Podle doporučení pro diagnostiku a léčbu hyperlipoproteinemií v dospělosti, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu, má být provedeno vyšetření cholesterolu jedenkrát za pět let u všech dospělých osob mezi 20–75 lety při preventivní prohlídce. Je-li koncentrace celkového cholesterolu  $< 5 \text{ mmol/l}$ , má být provedena další kontrola cholesterolu za 5 let.

Zjištěné hodnoty koncentrace cholesterolu  $> 5 \text{ mmol/l}$  by měly být důvodem k dalšímu vyšetření metabolismu lipidů, zvláště rozložení cholesterolu v lipoproteinových frakcích. Zvýšená koncentrace cholesterolu se často nachází u diabetiků nebo u hypotyreózy, snížená např. u pokročilých jaterních cirhóz nebo hypertyreózy.

## 2. Stanovení HDL-cholesterolu a LDL-cholesterolu

Zjištěné hodnoty koncentrace cholesterolu  $> 5 \text{ mmol/l}$  by měly být důvodem k dalšímu vyšetření metabolismu lipidů, zvláště rozložení cholesterolu v lipoproteinových frakcích, tedy v HDL a LDL.

### Stanovení HDL<sub>Chol</sub> v séru

V prvním reakčním kroku reagují všechny lipoproteinové částice (VLDL, IDL, LDL, chylomikrony) mimo HDL s protilátkami za vzniku imunokomplexů, ve kterých je cholesterol „maskován“ před působením enzymů. V druhém reakčním kroku je stanoven cholesterol v HDL pomocí série na sebe navazujících enzymových reakcí katalyzovaných cholesterolsterázou, cholesteroloxidázou a

peroxidázou. Barevný produkt vzniklý v poslední reakci katalyzované peroxidázou je měřen spektrofotometricky.

### Stanovení LDL<sub>Chol</sub> v séru

Princip stanovení spočívá ve specifické reakci polyaniontového detergentu s LDL částicemi za tvorby nerozpustných komplexů. Vznikající zákal se měří turbidimetricky.

### Hodnocení

Vysoký podíl z celkového cholesterolu séra vázaný v HDL-lipoproteinech se pokládá za známku dobré schopnosti vyloučit nežádoucí nadbytek cholesterolu z organismu. Naopak, hodnoty LDL<sub>chol</sub> jsou mírou aterogenní hypercholesterolemie.

## 3. Výpočet LDL-cholesterolu a odvozených parametrů

### LDL<sub>Chol</sub>

Koncentraci LDL<sub>Chol</sub> lze stanovit buď přímým měřením (viz výše) nebo výpočtem pomocí Friedewaldova vzorce:  $LDL_{Chol} = Chol_{Celk} - TG/2,2 - HDL_{Chol}$  (mmol/l).

Vzorec vychází z předpokladu, že ve většině sér nalačno chybí chylomikrony a že stanovené TG pocházejí převážně z VLDL, v nichž molární poměr TG/Chol má hodnotu 2,2. Uvedený vztah lze použít jen v případě, že koncentrace TG v séru je nižší než 4,5 mmol/l.

### Index Chol<sub>Celk</sub>/HDL<sub>Chol</sub> (aterogenní index)

Index zohledňuje fakt, že zvýšený HDL<sub>Chol</sub> je „negativní rizikový faktor“, snižující riziko ischemické choroby srdeční (ICHS). Současné zvýšení Chol<sub>Celk</sub> i HDL<sub>Chol</sub> nemusí riziko ICHS zvyšovat.

### Non-HDL<sub>Chol</sub>

$$Non-HDL_{Chol} = Chol_{Celk} - HDL_{Chol}$$

Tento parametr zohledňuje koncentraci všech aterogenních lipoproteinů.

### Cílové (žádoucí) hodnoty krevních lipidů běžné populace

Chol <sub>Celk</sub> (mmol/l)	LDL <sub>Chol</sub> (mmol/l)	TG (mmol/l)	HDL <sub>Chol</sub> (mmol/l)	Index Chol <sub>Celk</sub> /HDL <sub>Chol</sub>	Non-HDL <sub>Chol</sub> (mmol/l)
< 5,0	< 3,0	< 2,0	> 1,0	< 5,0	< 3,8

## 4. Další testy metabolismu lipoproteinů

### Apolipoprotein B

ApoB je velmi přesným ukazatelem rizika kardiovaskulárních onemocnění, neboť jeho koncentrace odráží počet všech aterogenních lipoproteinových částic v krvi. Stanovení apoB nevyžaduje vyšetření na lačno, je možné ho stanovit i při zvýšené koncentraci triacylglycerolů (TG až do 10 mmol/l). Stanovení apoB je možno provést imunoturbidimetricky.

### Lipoprotein (a)

Lp(a) je pokládán za nezávislý rizikový faktor aterosklerózy a za parametr s trombogenním a aterogenním potenciálem. Koncentrace Lp(a) je z 90 % geneticky determinována a plazmatické hladiny Lp(a) jsou nezávislé na hodnotách jiných lipoproteinů a apolipoproteinů. Stanovení lipoproteinu (a) je možno provést imunoturbidimetricky.