

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

HANA VIMMEROVÁ

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví (B5345)

Hana Vimmerová

Studijní obor: Zdravotní laborant (5345R020)

**ATEROSKLERÓZA A JEJÍ RIZIKOVÉ FAKTORY,
POROVNÁNÍ STANOVENÍ LDL-CHOLESTEROLU
PŘÍMOU A NEPŘÍMOU METODOU**

Bakalářská práce

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

PLZEŇ 2020

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Hana VIMMEROVÁ**
Osobní číslo: **Z17B0103P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Ateroskleróza a její rizikové faktory, porovnání stanovení LDL-cholesterolu
přímou a nepřímou metodou**
Zadávající katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravot-
nictví**

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu



Rozsah bakalářské práce:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- ČEŠKA, Richard. Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií. Vyd. 4., Praha: Triton, 2012. 408 s. ISBN 978-80-7387-599-2.
- ČEŠKA, Richard. Familiární hypercholesterolemie. Praha: Triton, 2015. 157 s. ISBN 978-80-7387-843-6.
- ŽÁK, Aleš a Jaroslav MACÁŠEK. Ateroskleróza: nové pohledy. Praha: Grada, 2011. 183 s. ISBN 978-80-247-3052-3.
- Widimský J.jr, Filipovský J., Ceral J. et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu arteriální hypertenze ČSH 2017: HYPERTENZE & KARDIOVASKULÁRNÍ PREVENCE. Praha: TARGET-MD, 2018, 7.(2.). ISSN 1805-4129.
- Stuart S. Carr, Amanda J. Hooper, David R. Sullivan, John R. Burnett. Pathology: Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. 2019, 51.(2.). 148 – 154 s. ISSN 0031-3025.

Vedoucí bakalářské práce:

MUDr. Roman Cibulka, Ph.D., MBA

Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **18. června 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2020**



PhDr. Lukáš Štich
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 30. 4. 2020.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Vimmerová Hana

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Ateroskleróza a její rizikové faktory, porovnání stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou

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

Počet stran – číslované: 53

Počet stran – nečíslované: 18

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 32

Klíčová slova: ateroskleróza, LDL-cholesterol, LDL princip, Friedewaldova rovnice, stanovení LDL-cholesterolu

Souhrn:

Bakalářská práce je rozdělena na dvě části, a to na teoretickou a praktickou část. Teoretická část se zabývá především aterosklerózou a rizikovými faktory, které toto onemocnění podněcují. Mezi rizikové faktory patří hlavně dyslipidemie, kouření, arteriální hypertenze, obezita a diabetes mellitus. Dále je v teoretické části popsán LDL-cholesterol, možnosti jeho stanovení a jeho účinek na lidský organismus. Praktická část je zaměřena na porovnání dvou metod stanovení LDL-cholesterolu a na faktory, které by tato stanovení mohly ovlivnit. První metoda je stanovení přímo a druhá výpočtem. Bylo zjištěno, že triglyceridy ovlivňují nepřímé stanovení, takže rozdíly mezi metodami korelují s koncentracemi triglyceridů.

Abstract

Surname and name: Vimmerová Hana

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

Title of thesis: Atherosclerosis and its risk factors, comparison of LDL-cholesterol determination by direct and indirect method

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

Number of pages – numbered: 53

Number of pages – unnumbered: 18

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 32

Keywords: atherosclerosis, LDL-cholesterol, LDL principle, Friedewald's equation, determination of LDL-cholesterol

Summary:

The bachelor thesis is divided into two parts, the theoretical and the practical part. The theoretical part deals mainly with atherosclerosis and risk factors that stimulate the disease. Risk factors include dyslipidemia, smoking, arterial hypertension, obesity and diabetes mellitus. Further, the theoretical part describes LDL-cholesterol, possibilities of its determination and its effect on the human organism. The practical part is focused on the comparison of two methods of determination of LDL-cholesterol and on the factors that could influence this determination. The first method is determination directly and the other method is the calculation. We found, that triglycerides influence the indirect assay, so differences between methods correlate with triglyceride concentrations.

Předmluva

Téma této bakalářské práce jsem si zvolila proto, že mě zajímá ateroskleróza a chtěla jsem se o tomto onemocnění dozvědět více. Hlavní cíl práce je porovnat mezi sebou dvě metody pro získání hodnot LDL-cholesterolu a určit, zda se budou lišit, a dále zjistit, z jakého důvodu se mohou lišit. Znat koncentraci LDL-cholesterolu je důležité pro léčbu poruch metabolismu lipidů, které jsou jednou z hlavních příčin aterosklerózy, a proto by hodnoty LDL-cholesterolu měly být co nejpřesnější.

Poděkování

Děkuji MUDr. Romanu Cibulkovi, Ph.D., MBA za odborné vedení práce, poskytování rad, materiálních podkladů a ochotu. Dále děkuji Ing. Jánmu Pekarovi a laboratoři Synlab v Plzni za poskytnutí dat do mé praktické části a Ing. Janu Očenáškovu, Ph.D za statistické zhodnocení dat. V poslední řadě bych ráda poděkovala své rodině za podporu a trpělivost.

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM TABULEK.....	13
SEZNAM GRAFŮ.....	14
SEZNAM ZKRATEK.....	15
ÚVOD	17
TEORETICKÁ ČÁST	18
1 ATEROSKLERÓZA.....	18
1.1 Co je ateroskleróza a jak vzniká.....	18
1.2 Význam aterosklerózy.....	20
2 RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY.....	22
2.1 Rizikové faktory obecně, jejich dělení.....	22
2.2 Hlavní ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy	22
2.2.1 Dyslipidemie	22
2.2.2 Kouření.....	25
2.2.3 Arteriální hypertenze	25
2.2.4 Stavby spojené s hyperglykemií (diabetes mellitus)	27
2.2.5 Obezita a metabolický syndrom	28
2.2.6 Nedostatečná fyzická aktivita.....	30
2.2.7 Další rizikové faktory	30
2.3 Hlavní neovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy.....	31
2.3.1 Věk.....	31
2.3.2 Pohlaví	31
2.3.3 Genetické faktory, rodinná anamnéza	31
3 LDL-CHOLESTEROL JAKO KLÍČOVÝ RIZIKOVÝ FAKTOR ATEROSKLERÓZY	32
3.1 Plazmatické lipoproteiny, definice LDL.....	33
3.2 LDL princip aterosklerózy	34
3.3 Metody stanovení LDL-cholesterolu	37
3.3.1 Nepřímé stanovení LDL-cholesterolu	37
3.3.2 Přímé stanovení LDL-cholesterolu.....	38
PRAKTICKÁ ČÁST.....	40
4 CÍL PRÁCE	40
4.1 Hlavní cíl.....	40
4.2 Dílčí cíle	40
5 VÝZKUMNÉ OTÁZKY.....	41
6 METODIKA PRÁCE A POUŽITÉ PŘÍSTROJE	42

6.1	Použitá metoda nepřímého stanovení LDL-cholesterolu.....	42
6.2	Použitá metoda přímého stanovení LDL-cholesterolu	42
6.2.1	Složení reagentie v testu.....	43
6.2.2	Příprava reagentie	43
6.2.3	Omezení a interference výsledků	44
6.2.4	Vyhodnocení výsledků naměřených přímou metodou	44
6.3	Použité přístroje.....	45
6.3.1	Popis přístroje.....	45
7	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU PACIENTŮ.....	46
8	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	48
	DISKUZE.....	66
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM LITERATURY	70

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Nestabilní a stabilní aterosklerotický plát.....	19
Obrázek 2: Přístroj Beckman Coulter AU480	45

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Cílové hodnoty krevních lipidů podle stupně kardiovaskulárního rizika	23
Tabulka 2: Vybrané sekundární hyperlipoproteinemie	24
Tabulka 3: Průměrné hodnoty celkového cholesterolu v populaci České republiky	33
Tabulka 4: Biologické účinky oxidovaných LDL	36
Tabulka 5: Prozánětlivé účinky LDL	36
Tabulka 6: Korelace mezi jednotlivými údaji	48
Tabulka 7: Pacienti s koncentrací triglyceridů 0,0-0,99 mmol/L	51
Tabulka 8: Pacienti s koncentrací triglyceridů 1,0-1,49 mmol/L	52
Tabulka 9: Pacienti s koncentrací triglyceridů 1,5-1,99 mmol/L	53
Tabulka 10: Pacienti s koncentrací triglyceridů 2,0-2,99 mmol/L	54
Tabulka 11: Pacienti s koncentrací triglyceridů 3,0-3,99 mmol/L	55
Tabulka 12: Pacienti s koncentrací triglyceridů 4,0-4,99 mmol/L	56
Tabulka 13: Pacienti s koncentrací triglyceridů 5,0 mmol/L a více	57
Tabulka 14: Medián koncentrací LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou	58

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Porovnání průměrných hodnot a mediánů LDL-cholesterolu pro přímou a nepřímou metodu	48
Graf 2: Korelace rozdílu LDL-CH a triglyceridů	49
Graf 3: Korelace cholesterolu s věkem	50
Graf 4: Porovnání hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou	58
Graf 5: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 0,0-0,99 mmol/L	59
Graf 6: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 1,0-1,49 mmol/L	60
Graf 7: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 1,5-1,99 mmol/L	61
Graf 8: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 2,0-2,99 mmol/L	62
Graf 9: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 3,0-3,99 mmol/L	63
Graf 10: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 4,0-4,99 mmol/L	64
Graf 11: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 5,0 mmol/L a více	65

SEZNAM ZKRATEK

LDL.....	lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoproteins)
ICHS.....	ischemická choroba srdeční
KVO.....	kardiovaskulární onemocnění
DLP.....	dyslipidemie
apo B.....	apolipoprotein B
HDL.....	lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoproteins)
ICHDK.....	ischemická choroba dolních končetin
nm.....	nanometr
kg.....	kilogram
L.....	litr
mm.....	milimetr
Hg.....	rtuť
mmol.....	milimol
CE.....	cholesterolesteráza
CHOD.....	cholesteroxidáza
POD.....	peroxidáza
DSBmT.....	N, N-bis(4-sulfobutyl)-m-toluidin
SLE.....	systemový lupus erythematos
Th	T helper lymfocyt
IL.....	interleukin
TNF.....	z angl. tumor necrosis factor

TGF.....z angl. transforming growth factor

HIV.....z angl. Human Immunodeficiency Virus

LIS.....laboratorní informační systém

TG.....triglyceridy

LDL-CH.....LDL-cholesterol

HDL-CH.....HDL-cholesterol

CHOL.....celkový cholesterol

mmol.....milimol

např.například

CT.....z angl. computer tomograph

resp.respektive

HDAOS.....N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyanilin

tj.....to je

ÚVOD

Bakalářská práce s názvem „Ateroskleróza a její rizikové faktory, porovnání stanovení LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou“ se zabývá aterosklerózou a jejími rizikovými faktory, LDL-cholesterolem a možnostmi jeho stanovení.

Ateroskleróza způsobuje velkou většinu srdečně cévních příhod, které jsou nejčastější příčinou úmrtí již téměř po celém světě. Jako první komplikace spojená s onemocněním se může objevit nedokrevnost orgánů, které zásobují postižené tepny. Mezi ty nejznámější a nejčastější onemocnění sem můžeme zařadit ICHS, mozkovou mrtvici a nedokrevnost dolních končetin. (Vrablík, 2014)

V teoretické části se dále zmiňuji o rizikových faktorech, které toto onemocnění podporují, popisuji LDL princip a přímou i nepřímou metodu stanovení LDL-cholesterolu, o kterém bude celá praktická část.

V současnosti se při léčbě používá jako hlavní parametr LDL-cholesterol, který nadále zůstává determinantem rizikivosti i screeningovým parametrem. (Vrablík, 2019) Z toho důvodu je přesná koncentrace LDL-cholesterolu důležitá, protože podle ní dostává pacient náležitou medikaci, která se vztahuje ke stupni kardiovaskulárního rizika, do něhož pacient spadá. Podle tohoto stupně je pak nastavená horní hranice koncentrace LDL-cholesterolu, kterou by pacient neměl přesáhnout.

Hlavním cílem práce bylo tedy porovnat přímé a nepřímé stanovení LDL-cholesterolu a zjistit, jestli se budou lišit či nikoliv. Dalším cílem bylo stanovit faktory, kvůli kterým by případný rozdíl mohl nastat.

TEORETICKÁ ČÁST

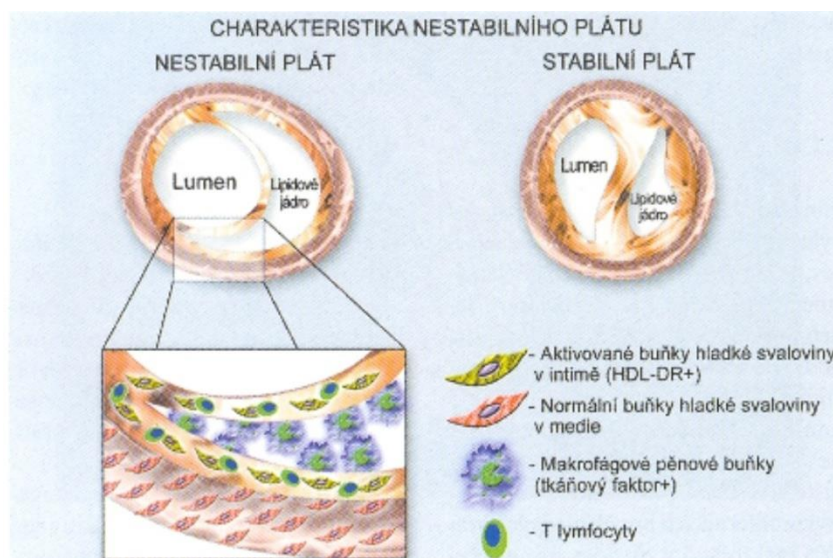
1 ATEROSKLERÓZA

Ateroskleróza neboli kornatění tepen je zánětlivé onemocnění cévní stěny. Vnitřní stěny tepen by měly být hladké a pružné, ovšem s přibývajícím věkem se zde vytvářejí usazeniny. Tyto usazeniny jsou akumulované lipidové částice v cévní stěně, které interagují s imunitním systémem. Důsledkem je následné funkční i morfologické postižení cévní stěny. Pokud se budou usazeniny i nadále zvětšovat, průtok krve některými cévami se bude zmenšovat, a může dojít až k jejich úplnému uzavření. (Češka, 2010)

1.1 Co je ateroskleróza a jak vzniká

Tento zánětlivý proces probíhá v tepnách, nejčastěji jsou postiženy koronární arterie, hrudní aorta, arteria poplitea, vnitřní karotické arterie a tepny Willisova okruhu. Ve vnitřní výstelce tepen se ukládají tukové depozity, cholesterol, odpadní látky buněčného metabolismu, vápník a další substance, které tvoří ve stěnách tepen aterosklerotický plát. (Bernát, 2016) Aterosklerotické pláty se charakteristicky vyskytují v místech větvení, zakřivení tepen a tam, kde krevní proud podstupuje rychlé změny ve směru a rychlosti toku. Tento plát časem roste, a proto dochází k zúžení tepny, které zapříčiní snížení průtoku krve. Pokud nestabilní plát praskne a na jeho povrchu (v místě, kde praskne) se utvoří krevní sraženina, může ucpe postiženou tepnu a zastavit tak průtok krve. Některé pláty nemusí způsobit zástavu průtoku krve, ale může se jejich část uvolnit do krevního řečiště, kde může náhle zablokovat průtok krve v cévě. (Dufek, 2003) Aterosklerotické pláty mohou být rozděleny na nestabilní a stabilní. U stabilního plátu většinou nedochází k jeho uvolnění do krevního řečiště, kde by se pak následkem toho mohla tvořit trombóza. Struktura plátu je taková, že má menší lipidové jádro, silnou a stabilní vazivovou čepičku a obsah tuku v něm je nižší. Naopak nestabilní plát má tendenci se při okraji v místě raménka odlamovat. Dále je plát charakteristický svým větším lipidovým jádrem, tenkou vazivovou čepičkou (snáze praská) a hromaděním extracelulárních tuků. Mezi endotelem a tukovým jádrem se vyskytují především makrofágy, ojediněle pak buňky hladké svaloviny a minimální množství kolagenu. Při intenzivní hypolipidemické léčbě dochází po několika týdnech až měsících ke změně nestabilního plátu na stabilní plát. (Češka, 2012)

Obrázek 1: Nestabilní a stabilní aterosklerotický plát



Zdroj: Češka, 2012

Vlivem endoteliálního poškození dochází k zánětu a k fibroproliferativním změnám. Narušený endotel není tak těsný a propouští do stěny tepny makromolekuly včetně LDL částic. Příčiny poškození endotelu jsou např.: LDL, zvýšený krevní tlak, infekční agens, toxiny včetně produktů cigaretového kouře, hyperglykémie a hyperhomocysteinémie. Monocyty, které cirkulují v krevním řečišti, přestupují do intimy a působí jako úklidové buňky, pohlcují cholesterol a mění se v lipofágy. Tyto makrofágy produkují množství faktorů, některé působí jako růstové faktory stimulující hladké svalové buňky k proliferaci a některé mohou endotelium poškozovat. (Dufek, 2003) Endoteliální dysfunkce je prvním stádiem aterosklerózy a je definována jako funkční postižení endotelu, které vede ke zvýšení propustnosti stěny cév. Vzniká tak nerovnováha mezi vazoaktivními mechanismy a hemokoagulačním působením. Výsledky těchto změn vedou k další progresi aterosklerotické léze. (Vrablík, 2011)

Několik studií poskytuje důkaz, že infekční agens mohou urychlit aterosklerotické procesy. Například infekce *Helicobacter pylori*, HIV a *Chlamydia pneumoniae* byly spojeny s aterosklerózou u lidí. Respirační infekce *Chlamydia pneumoniae* byla spojena s aterosklerózou ve více lidských sérologických studiích, což poskytuje některé z prvních důkazů o spojitosti mezi infekcí a aterosklerózou. Dalším důkazem byla přítomnost této bakterie v aterosklerotických tepnách. (Nagarajan, 2019)

Experimenty s delecí genu ukázaly, že narušení zánětlivých genů snižuje aterosklerózu nezávisle na změně hladin cirkulujících lipidů. Zvýšené riziko aterosklerózy u chronických imunitních zánětlivých onemocnění, jako je revmatoidní artritida a SLE,

poskytuje nepřímou podporu pro roli chronického zánětu u aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění. Nedávná pozorování rovněž naznačují, že kromě aktivního zánětu může při přetrvávajícím chronickém zánětu, který charakterizuje aterosklerózu, hrát roli také nedostatečné řešení akutního i chronického vaskulárního zánětu. Ovšem u chronického zánětu se u těchto pacientů časněji zahajuje léčba statiny, neboť tyto léky působí také protizánětlivě ve stěnách cév. Další experimentální studie ukázaly, že adaptivní imunitní reakce, která je řízená antigen prezentujícími buňkami a T-buněčnými podtypy na různé autoantigeny (LDL, oxidované LDL, apo B100), může vyvolat prozánětlivou odpověď, která podporuje aterogenezi. To je zprostředkováno polarizací naivních T lymfocytů na fenotypy Th-1 a Th-17 se sekrecí zánětlivých cytokinů, jako je interferon gama, TNF alfa, IL-17. Naopak aktivace regulační odpovědi T-buněk je spojena s inhibicí aterosklerózy zprostředkované sekrecí protizánětlivých cytokinů IL-10 a TGF beta. (Shah, 2019)

1.2 Význam aterosklerózy

Ateroskleróza způsobuje velkou většinu srdečně cévních příhod, které jsou nejčastější příčinou úmrtí již téměř po celém světě. Aterosklerotické změny tepen se mohou vyvíjet zcela bez příznaků i několik desítek let. Jako první komplikace spojená s onemocněním se může objevit nedokrevnost orgánů, které zásobují postižené tepny. Mezi ty nejznámější a nejčastější onemocnění sem můžeme zařadit ICHS, mozkovou mrtvici a nedokrevnost dolních končetin. (Vrablík, 2014)

Podle patologicko-anatomického hlediska jsou rozlišovány tři formy aterosklerózy, a to tukové proužky (časné léze), fibrózní a ateromové pláty, komplikované léze. Tukové proužky se vyskytují běžně především v intimě velkých cév a neovlivňují tak průtok krve. Ovšem nejsou stabilním a konečným poškozením cévní stěny, a tak se mohou dále vyvíjet v aterosklerotické léze. (Češka, 2012) Vyhodnocení aterosklerotických lézí u vysoce rizikových pacientů se rutinně provádí CT angiografií koronárních tepen. Celková zátěž aterosklerózy se počítá z nekalcifikovaného plátu. Kalcifikovaný plát má dobře stanovenou prognostickou hodnotu pro predikci kardiovaskulárních výsledků. Nekalcifikovaný plát může představovat reverzibilní fázi aterosklerotického procesu. (Gordon, 2018)

Druhou formou jsou fibrózní pláty (ateromy), které jsou větší, tužší a mají ostrou hranici ve stěně cév. Pláty obsahují velké množství proliferujících buněk hladkého svalstva, makrofágů, pěnových buněk a najdeme zde i lymfocyty. V hlubší vrstvě ateromu jsou uložena nekrotická ložiska, která mohou kalcifikovat. Poslední formou jsou komplikované

léze, které vznikají z fibrózního plátu masivní kalcifikací. Typické jsou pro ně změny jako ulcerace a ruptura, kde se potom v místě změny adherují trombocyty. Krevní destičky se dále agregují, což vede k tvorbě trombózy v postiženém místě. Trombóza, která doprovází nestabilní aterosklerotický plát, je zodpovědná za onemocnění jako jsou nestabilní angina pectoris, infarkt myokardu a je také příčinou akutních koronárních syndromů. (Češka, 2012)

2 RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY

V posledních desetiletích byly postupně popsány desítky až stovky rizikových faktorů tohoto onemocnění. Rizikové faktory definují následující atributy: mohou přispívat ke vzniku aterosklerózy, podporují usazování lipidů v cévní stěně, potencují vznik trombózy a mohou urychlit manifestaci cévní nestability a insuficience. (Češka, 2012)

2.1 Rizikové faktory obecně, jejich dělení

Češka (2012), Žák a Macásek (2011) se shodují na tom, že rizikový faktor lze definovat jako určitý klinický nebo laboratorní znak, který je důležitým ukazatelem rozvíjející se nemoci, a který může mít příčinnou souvislost s daným onemocněním. Jeho přítomnost je spojena se statisticky významně vyšším relativním rizikem, že člověk bude mít v budoucnu dané onemocnění. Rizikové faktory aterosklerózy je možné dělit podle několika hledisek, ovšem nejpoužívanějším hlediskem je rozdělení rizikových faktorů na ovlivnitelné a neovlivnitelné.

2.2 Hlavní ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy

Ovlivnitelných faktorů ICHS a aterosklerózy známe již desítky, ale nejdůležitější jsou tři z nich. Patří sem dyslipidemie, kouření cigaret a arteriální hypertenze. Mezi další důležité ovlivnitelné rizikové faktory patří diabetes mellitus a obezita, se kterými se pojí také vyšší výskyt KVO. (Češka, 2012)

2.2.1 Dyslipidemie

DLP jsou jedním z nejzávažnějších faktorů rozvoje KVO, především ICHS, a současně nejčastější metabolickou poruchou v naší populaci. Účinná léčba DLP (především snižování LDL-cholesterolu) vede ke snížení mortality a morbidity na KVO a ICHS, může navodit regresi koronární aterosklerózy a snížit celkovou úmrtnost na tato onemocnění, čímž je prokázáno, že se jedná o kauzální rizikový faktor. (Vaverková a kol., 2007)

DLP je definována jako zvýšení koncentrací cholesterolu a/nebo triglyceridů a/nebo jako snížení HDL-cholesterolu. Na jejím vzniku se podílí v první řadě genetické predispozice, dále pak složení a množství stravy, alkohol, fyzická aktivita a tělesná hmotnost. Podle praktického i terapeutického hlediska jsou DLP děleny na tři skupiny:

- izolovaná hypercholesterolemie (zvýšení celkového cholesterolu, většinou ve frakci LDL-cholesterolu, při normální koncentraci triglyceridů)
- izolovaná hypertriglyceridemie (zvýšení triglyceridů v kombinaci s normální koncentrací cholesterolu)
- kombinovaná (smíšená) hyperlipidemie (současné zvýšení cholesterolu i triglyceridů)

Někdy se udává rozdělení do čtyřech základních skupin. Čtvrtým typem může být izolované snížení HDL-cholesterolu. To je ovšem vzácné onemocnění. Základní laboratorní vyšetření pro diagnostiku DLP obsahuje stanovení koncentrací celkového cholesterolu, triglyceridů, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu (výpočtem, popř. přímým měřením) a informaci o chylozitě séra. Někdy se provádí vyšetření na stanovení koncentrace apo B, které může být velmi podstatné u určitých skupin pacientů. Apo B ukazuje počet všech aterogenních lipoproteinových částic v krvi. Doplnující vyšetření je přínosné zejména u osob s hypertriglyceridemií, metabolickým syndromem a s diabetes mellitus, protože u těchto onemocnění je časté zmnožení malých denzních LDL částic. (Vaverková a kol., 2007)

V tabulce 1 se nachází cílové hodnoty koncentrací LDL-c (LDL-cholesterol), non HDL-c (celkový cholesterol mínus HDL-c) a apo B (apolipoprotein B). Dále nám tabulka 1 ukazuje hodnoty, které jsou vztaženy ke stupni kardiovaskulárního rizika.

Tabulka 1: Cílové hodnoty krevních lipidů podle stupně kardiovaskulárního rizika

Riziko	Nízké	Středně zvýšené	Vysoké	Velmi vysoké	Extrémní
LDL-c (mmol/l)	<3,0	<2,6 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	<1,8 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	<1,4 a snížení o nejméně 50 % hodnot před léčbou	<1,0
Non-HDL-c (mmol/l)	<3,8	<3,4	<2,6	<2,2	<1,8
Apo B (g/l)	-	<1	<0,8	<0,65	<0,55

Zdroj: Vrablík, 2019

Hyperlipoproteinemie lze dělit i podle etiologie na primární, sekundární a smíšené. Primární hyperlipoproteinemie jsou geneticky podmíněné. Sekundární hyperlipoproteinemie vznikají jako důsledek určitého základního onemocnění, které může ovlivnit metabo-

lismus lipidů a lipoproteinů. Po kompenzaci základního onemocnění dojde k další kompenzaci, a to právě hyperlipoproteinemie. U většiny nemocných však prokážeme kombinaci genetických vlivů a vlivů zevního prostředí, a proto takové onemocnění nazýváme hyperlipoproteinemie smíšené etiologie. V tabulce 2 jsou vybrané sekundární hyperlipoproteinemie. (Češka, 2015)

Tabulka 2: *Vybrané sekundární hyperlipoproteinemie*

Hypercholesterolemie
• akutní intermitentní porfyrie
• mentální anorexie
• hypotyreóza
Hypertriglyceridemie
• diabetes mellitus
• obezita
• alkoholismus
Kombinovaná hyperlipidemie
• hypotyreóza
• nefrotický syndrom
• léčba kortikoidy

Zdroj: Češka, 2015

Familiární hypercholesterolemie je nejčastější forma vrozené DLP. Onemocnění se dědí autozomálně dominantně a příčinou je porucha funkce (snížení počtu) LDL receptorů, kterou způsobí mutace v genu pro LDL receptor. Nově se uvádí za příčinu tohoto onemocnění i mutace genu pro proprotein konvertázu subtilizin-kexin 9, to je ovšem velmi vzácné. Zvýšená koncentrace LDL-cholesterolu vede k rozvoji ICHS a předčasné manifestaci KVO. V České republice je frekvence onemocnění v populaci 1:250, některé zdroje udávají frekvenci dokonce i 1:200. Nemoc je diagnostikována u naprosté většiny lidí až v dospělosti. (Češka, 2015) Je-li u dospělého člověka naměřená koncentrace LDL-cholesterolu > 6–7 mmol/L a celkového cholesterolu > 8–9 mmol/L s normální koncentrací triglyceridů a HDL-cholesterolu, a zároveň jsou u něj vyloučeny příčiny sekundárních DLP, tak diagnózou je často familiární hypercholesterolemie. (Vaverková a kol., 2007) Nefarmakologická léčba (dietní opatření) u těchto nemocných není dostačující ke kompenzaci poruchy a k dostatečnému snížení kardiovaskulárního rizika, protože dochází k poklesu cholesterolu pouze o 5-10 %, a tak nemocný jedinec musí podstupovat agresivní celoživotní léčbu hypolipidemiky (statiny, ezetimib, pryskyřice, resp. jejich kombinace), aby se snížilo riziko předčasné manifestace aterosklerózy. Extrémně zvýšené riziko KVO

mají homozygoti (frekvence v populaci 1:300 000), kteří vyžadují pro svoji léčbu pravidelné provádění LDL-afézy v kombinaci s intenzivní medikamentózní léčbou. Jelikož má onemocnění vždycky genetický podklad, nemůžeme předpokládat její vyléčení. Léčbou dosahujeme pouze její stabilizaci a kontrolu nad cílovými hodnotami. Proces terapie je celoživotní a nelze ji přerušit či ukončit po dosažení cílových hodnot. Nemocné s familiární hypercholesterolemií je nutné vyhledávat pomocí cíleného screeningu v rodinách, kde se vyskytují osoby s předčasnou ICHS a mezi příbuznými osob s již diagnostikovaným onemocněním. (Češka, 2015)

Familiární defekt apo B-100 se vlastně zrcadlí s familiární hypercholesterolemií. Patologický apo B-100 neumí vázat LDL částici na LDL receptor, a to má za následek hromadění LDL a vyšší koncentraci celkového i LDL cholesterolu. Klinický obraz a léčba tohoto onemocnění je obdobná s familiární hypercholesterolemií. (Češka, 2015)

2.2.2 Kouření

Kouření cigaret zvyšuje úmrtnost na KVO, podporuje výskyt ICHS a negativně ovlivňuje celý lipoproteinový metabolismus. (Vaverková a kol., 2007) Cigaretový kouř obsahuje několik tisíc složek, které mají škodlivý vliv na lidský organismus. Po vykouření cigarety cévní stěna ztrácí své antitrombogenní vlastnosti a dochází k rozvoji endotelové dysfunkce. Nikotin způsobuje zvýšení hladiny celkového i LDL cholesterolu, zvyšuje se také hladina triglyceridů, naopak koncentrace HDL cholesterolu se snižuje. Z hlediska kvality částic převažují malé denzní LDL částice, které mají nejvyšší aterogenní potenciál. Kouření dále ovlivňuje hemokoagulaci, protože zvyšuje agregabilitu trombocytů a fibrinogenu a snižuje produkci antitrombogenních látek endotelem (Vrablík a kol., 2017) Bude-li v cigaretách nižší obsah nikotinu, tak se riziko nebude snižovat. Z hlediska sekundární prevence ICHS je důležité vědět, že po zanechání kouření riziko další koronární příhody klesá, a navíc se většinou zvýší HDL-cholesterol. Pokles nastává po relativně krátké době několika měsíců, ale na úroveň nekuřáka se člověk dostane zhruba až za 10 let. Kouření doutníků a dýmky nebývá spjato se zvýšením rizika ICHS, ale je spojeno s jinými onemocněními, jako je rakovina rtu či jazyka. (Češka, 2012)

2.2.3 Arteriální hypertenze

Arteriální hypertenze představuje ve vyspělých zemích velmi vážný zdravotní problém. Spolu s dalšími rizikovými faktory je jedním z nejzávažnějších faktorů kardiovaskulárních komplikací, které jsou projevem aterosklerózy. Prevalence hypertenze v České republice

ve věku 25-64 let je 40 %, ovšem ve věku od 55 let do 64 let je to u žen 65 % a u mužů 72 %. (Widimský, 2018)

Arteriální hypertenze je definována opakovaným zvýšením krevního tlaku $\geq 140/90$ mm Hg, kdy tato hodnota musí být naměřena alespoň při 2 různých návštěvách lékaře. Hypertenzi dělíme na mírnou, středně závažnou a závažnou. Za mírnou hypertenzi nebo také hypertenzi 1. stupně se označuje krevní tlak 140-149/90-99 mm Hg. Hypertenze 2. stupně či středně těžká je definována krevním tlakem 160-179/100-109 mm Hg. Posledním stupněm hypertenze je hypertenze závažná (3. stupně), kdy je změřen krevní tlak $\geq 180/110$ mm Hg. (Widimský, 2018) Pro správnou a specifickou léčbu je důležité, aby se odlišila primární hypertenze od sekundární. Přesná příčina primární hypertenze není známa na rozdíl od sekundární hypertenze, kdy lze příčinu odstranit. Sekundární hypertenzi trpí pouze 10 % pacientů. Nejčastějšími formami sekundární hypertenze jsou primární hyperaldosteronismus, renální hypertenze a vrozené zúžení aorty. Všechna tato onemocnění zvyšují krevní tlak. (Kautzner, 2019)

Prognóza pacientů s arteriální hypertenzí se liší podle úrovně krevního tlaku, přítomnosti dalších rizik a podle postižení orgánů jako srdce, mozek nebo ledviny. Proto se při zjištění arteriální hypertenze doporučuje stanovit míru celkového rizika pro pacienta. To se provádí pomocí nomogramů, které vycházejí z epidemiologických studií. Tyto studie dovolují odhad výše rizika smrtících kardiovaskulárních příhod v následujících 10 letech. Osoby, s již existujícím kardiovaskulárním onemocněním nebo s onemocněním ledvin mají vysoké nebo velmi vysoké riziko úmrtí. Dále u lidí, kteří ještě nemají žádné zjevné onemocnění, stanovujeme riziko odhadem podle věku, pohlaví, kouření, hodnot krevního tlaku a hladiny cholesterolu. Také diabetici jsou automaticky řazeni do skupiny vysokého rizika. (Kautzner, 2019)

Léčba osob s arteriální hypertenzí může být nefarmakologická a/nebo farmakologická (podávání léků). Při nefarmakologické léčbě je důležité, aby byl nemocný poučen o povaze onemocnění a nutnosti změně životního stylu. Nejdůležitější změnou je absolutní zákaz kouření, protože kouření tabáku aktivuje sympatický nervový systém, poškozují vnitřní výstelku cév a aktivuje srážení krevních destiček. Prognóza nemocných, kteří přestanou kouřit, je výrazně lepší nežli těch, kteří dále kouří. Mezi další sekundárně preventivní opatření se řadí tělesná aktivita a dietní omezení. Dieta s daným přívodem tuku, který obsahuje nižší podíl nasycených mastných kyselin, dokáže u nemocných s ICHS zpomalit progresi

koronární aterosklerózy a snížit jejich celkovou úmrtnost. Další opatření spočívají v nižší spotřebě alkoholu, soli a zvýšené konzumaci ovoce a zeleniny. Pro zahájení farmakologické léčby jsou rozhodujícími faktory výše krevního tlaku, celkového kardiovaskulárního rizika a přítomnosti postižení orgánů jako srdce, mozek a ledviny. Léčbu zahajujeme neprodleně u všech nemocných se systolickým krevním tlakem větší než 180 mm Hg nebo diastolickým krevním tlakem větší než 110 mm Hg bez ohledu na jejich celkové kardiovaskulární riziko nebo přítomnost poškození cílových orgánů. Nejvýznamnějšími cíli léčby je kromě snížení krevního tlaku i léčba přidružených onemocnění a odstranění všech odstranitelných rizik. Krevní tlak by měl být snížen na cílové hodnoty pod 140/90 mm Hg u všech a pod 130/80 mm Hg u diabetiků. (Kautzner, 2019)

2.2.4 Stavby spojené s hyperglykemií (diabetes mellitus)

Diabetes mellitus je primárně metabolické onemocnění, jehož dlouhodobé trvání vede v důsledku hyperglykémie k poškození jednotlivých tkání a orgánů. Dále dochází ke změnám na cévním řečišti v oblasti mikrocirkulace (kapiláry, venuly a arterioly) a vzniká diabetická mikroangiopatie. Změny v oblasti středně velkých a velkých tepen dávají vzniknout diabetické makroangiopatii. Makroangiopatie je v podstatě akcelerovaná ateroskleróza, která se rozvíjí nezávisle na délce trvání diabetu. (Broulíková, 2018)

U diabetiků jsou však patrné určité klinické odlišnosti aterosklerotického onemocnění. Známky KVO se u diabetiků rozvíjí již v mladším věku, nejsou zde rozdíly mezi pohlavími a u žen, které mají diabetes mellitus, je dokázáno, že ochranný vliv estrogenů před aterogenními vlivy je zde velmi oslabený. (Broulíková, 2018)

Diabetes mellitus významně zvyšuje riziko koronární, mozkové a periferní aterosklerózy, jejímž důsledkem je manifestace srdečního infarktu, cévní mozkové příhody, končetinové ischemie a vyšší mortalita u diabetiků. Komplexní a vytrvalou kontrolou všech rizikových faktorů aterosklerózy lze dojít ke snížení rizika rozvoje kardiovaskulárních onemocnění u diabetiků. Nikotinová abstinence, kontrola diabetu, hypertenze a dyslipidemie a podávání léků s antiagregačním působením jsou základními atributy, jak můžeme docílit snížení rizika. (Broulíková, 2018)

Nemocní s diabetem bez dalších rizikových faktorů nejsou automaticky vysoce riziková. Problémem je, že takových diabetiků (zejména 2. typu) je minimum. Diabetes mellitus je obvykle spojen i s dalšími rizikovými faktory, a právě proto je většina diabetiků vysoce rizikových. Dále pak mladí diabetici 1. typu bez známek orgánového postižení mohou mít

riziko středně zvýšené nebo dokonce nízké. Zvýšené riziko vzniká až teprve po řadě let trvání choroby, a to hlavně u osob s dlouhodobě špatnou kompenzací diabetu. Ovšem i zde musíme počítat s jistým vlivem genetické dispozice pro KVO. (Soška, 2017)

Více než 75 % nemocných diabetem mellitus 2. typu umírá na kardiovaskulární choroby a z toho zhruba 50 % diabetiků zemře do pěti let po prodělaném infarktu myokardu. Diabetik, který je již po akutní koronární příhodě, má riziko reinfarktu, srdečního selhání či smrti vyšší než člověk, který je po stejné příhodě, ovšem není diabetik. Epidemiologická studia i klinické zkušenosti ukazují, že se ICHDK vyskytuje desetkrát častěji u diabetiků než u osob stejného stáří bez diabetu. Hlavní důvod častějšího výskytu ICHDK u osob s diabetem je takový, že se spojí několik rizikových faktorů aterosklerózy, v rámci metabolického syndromu. Nápadná korelace mezi poruchou glukózového metabolismu a aterogenezí podporuje teorii, že ateroskleróza a diabetes mellitus 2. typu, mají společného jmenovatele, kterým se zdá být inzulinová rezistence. (Broulíková, 2018)

Prediabetes definujeme jako zvýšení glykemií nad normální rozmezí, které však nedosahuje hodnot diagnostických pro diabetes. Jde o stav, který předchází diabetu a sám zvyšuje riziko jeho rozvoje, zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění a riziko onkologických onemocnění. Projevuje se následně: hraniční glykémie nalačno a porušení glukózy tolerance. (Perušičová a kol., 2012)

2.2.5 Obezita a metabolický syndrom

Největší přínos ve studiu metabolického syndromu měly práce Geralda Reavena a jeho spolupracovníků, které se staly podkladem hypotézy, že v etiologii ICHS a diabetu mellitu 2. typu má zásadní roli inzulinová rezistence (porušená odpověď tkání na působení inzulinu). Reaven označil soubor rizikových faktorů spojených s inzulinovou rezistencí jako syndrom X a až koncem 20. století byl zaveden termín metabolický syndrom. (Žák a Macášek, 2011)

Metabolický syndrom zahrnuje rizikové faktory, které se uplatňují v patogenezi ICHS a diabetu mellitu 2. typu. Jsou to viscerální obezita, abnormality glukózy homeostázy, aterogenní dyslipidemie a arteriální hypertenze. Tyto rizikové faktory se často vyskytují společně a mají kauzální souvislost s inzulinovou rezistencí. Metabolický syndrom představuje zvýšené riziko ICHS, dvakrát až třikrát zvyšuje riziko úmrtí na KVO a pětkrát až devětkrát zvyšuje riziko rozvoje diabetu mellitu 2. typu. (Žák a Macášek, 2011)

Etiopatogeneze metabolického syndromu je multifaktoriální. Mezi hlavní příčiny patří faktory jako obezita, fyzická inaktivita, vlivy diety, stárnutí a vlivy genetické. K častějšímu výskytu metabolického syndromu dochází v rodině jako následek sdílení genů, které predisponují u nositele či jeho příbuzných k rozvoji nemoci. Rovněž některá etnika dosahují extrémně vysoké prevalence metabolického syndromu důsledkem selekce, kdy přežijí jedinci s „úsporným genotypem“, který je charakterizován nízkým bazálním energetickým výdejem. Snižováním výdeje se manifestuje rychlá akumulace tuku, zejména viscerálního. Další prudký nárůst prevalence metabolického syndromu je zapříčiněn změnou životního stylu, pro kterou je typický nadměrný přívod živin, a také změna složení potravy. Dietní faktory, které podporují rozvoj metabolického syndromu, jsou zvýšený energetický přísun, vysoký obsah nasycených tuků, rafinovaných cukrů, trans-mononenasycených mastných kyselin a nízký podíl cis-mononenasycených kyselin. K pozitivní energetické bilanci přispívá také sedavý způsob života, který zapříčiňuje pokles energetického výdeje. I kouření zhoršuje stav člověka s metabolickým syndromem, protože působí na 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy, která umožňuje inaktivaci kortizolu na kortizon. Výsledkem procesu je hyperkortizolemie, která zvyšuje množství viscerální tukové tkáně a přispívá k inzulínové rezistenci. (Žák a Macášek, 2011)

Výzkumy přinášejí stále nové poznatky o metabolických poruchách, které se podílejí na patogenezi metabolického syndromu. Většina autorů je toho názoru, že klíčovou úlohu má inzulínová rezistence a viscerální obezita a oba tyto faktory se vzájemně ovlivňují. Inzulínová rezistence je podmíněna postreceptorovou poruchou inzulínové signální kaskády. Tato porucha se většinou rozvíjí nejprve v tukové tkáni, později je nejen v kosterním svalstvu a v játrech, ale také ještě v centrálním nervovém systému, cévním endotelu a imunokompetentních buňkách. Morfologicky se inzulínová rezistence projeví vyšším intracelulárním nahromaděním tuků. Tuková tkáň má nezastupitelnou a významnou roli při regulaci glukózové homeostázy. Objem viscerální tukové tkáně, který se stanoví výpočetní tomografií, předpovídá vznik metabolického syndromu lépe než odhady celkového množství podkožního tuku. Objem viscerální tukové tkáně je pouze 6–20 % z celkového množství tělesného tuku. Metabolický obrat triglyceridů viscerální tukové tkáně činí 3 měsíce, což je výrazně kratší doba v porovnání s abdominální podkožní tukovou tkání, která je 6 měsíců, a dokonce i podkožním tukem gluteofemorální oblasti, kde je metabolický obrat 8 měsíců. Inzulínová rezistence vzniká důsledkem vyčerpané kapacity tukové tkáně skladovat lipidy (respektive triglyceridy) v důsledku nadbytečného energetického příjmu, kdy již

není kam energii ukládat, což má spolu s nedostatečnou supresí lipolýzy za následek trvale zvýšený tok volných mastných kyselin. Právě ty jsou důvodem, proč se již v časném stádiu inzulinové rezistence rozvíjí aterogenní dyslipidemie a dochází k ektopické akumulaci triglyceridů spolu s dalším projevem, kterým je lipotoxicita. (Žák a Macásek, 2011)

2.2.6 Nedostatečná fyzická aktivita

V epidemiologických studiích se prokázalo, že fyzické cvičení snižuje riziko srdečních příhod. (Dufek, 2003) Pravidelná fyzická aktivita zvyšuje koncentraci HDL-cholesterolu, současně snižuje koncentraci celkového cholesterolu i triglyceridů. Dále také napomáhá snížit tělesnou hmotnost, inzulinovou rezistenci a krevní tlak. Cvičení je přínosné pro všechny věkové skupiny, ovšem jeho délku a typ je nutné volit individuálně. U nemocných s prokázaným KVO je třeba nejprve provést komplexní klinické vyšetření a zátěžový test, který umožní doporučit vhodnou velikost zátěže pro konkrétního nemocného. U osob obézních nebo s postižením pohybového aparátu je třeba zvolit takovou formu zátěže, která je pro ně přijatelná. K dobré kontrole rizikových faktorů aterosklerózy přispívá také pravidelný a individuálně dávkovaný pohyb. (Vaverková a kol., 2007)

2.2.7 Další rizikové faktory

Homocystein je kyselina, která vzniká při metabolické přeměně methioninu na cystein. Zvýšená koncentrace je spojena s KVO, hlavně pak s ICHS a cévním onemocněním mozku. Homocystein působí protromboticky tím, že zvyšuje vazbu lipoproteinu(a) na fibrin, stimuluje tvorbu tromboxanu A₂ v krevních destičkách, aktivuje faktor V, a naopak interferuje s aktivací proteinu C a expresí trombomodulinu. Dále inhibuje proliferaci endotelových buněk, zvyšuje proliferaci hladkých svalových buněk cévní stěny a zvyšuje oxidační stres oxidací částic LDL. (Žák a Macásek, 2011)

C-reaktivní protein (CRP) je typickým reaktantem akutní fáze zánětu. Může se podílet na rozvoji, progresi a destabilizaci aterosklerotické léze. Bylo prokázáno, že CRP indukuje expresi adhezních molekul v lidských buňkách umbilikální žíly i v endoteliích koronárních tepen. Navíc je ligand receptorů pro oxidované LDL. (Žák a Macásek, 2011)

Fibrinogen neboli koagulační faktor I je protein krevní plazmy a jako nezávislý rizikový faktor aterosklerózy byl identifikován již před lety. Patofyziologicky se uplatňuje při vzniku trombu nasedajícího na aterosklerotický plát, který způsobuje okluzi cévy a následně vede k rozvoji akutního koronárního syndromu. (Žák a Macásek, 2011)

Další složku, kterou můžeme v aterosklerotických lézích prokázat, je lipoprotein(a). Tato molekula je částečně homologní s plazminogenem a soutěží s ním o receptor s následným snížením fibrinolytické aktivity. (Češka, 2012)

2.3 Hlavní neovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy

Do skupiny neovlivnitelných rizikových faktorů patří věk, pohlaví, genetické faktory a již prodělané kardiovaskulární onemocnění v minulosti. Někteří autoři zohledňují ještě rasové faktory, ovšem ty nejsou ještě jednoznačně vyřešeny, protože se někdy může jednat spíše o interferenci vlivu prostředí s vrozenou dispozicí. (Češka, 2012)

2.3.1 Věk

Rozvoj aterosklerózy je dlouhodobý proces, proto riziko její manifestace roste s věkem. Rizikové roky začínají u muže od 45 let věku a výše, zatím co u ženy je to 55. rok života a výš. U ženského pohlaví se ovšem tato hranice může snižovat, pokud je žena po arteficiální menopauze. (Češka, 2012)

2.3.2 Pohlaví

Je jednoznačně prokázáno na celém světě, že muži mají o dost vyšší riziko rozvoje aterosklerózy než ženy. Riziko u žen se zvyšuje po menopauze v případě, že ženě nejsou podávány substituční dávky estrogenů. Hormon estrogen má protektivní efekt, který souvisí s vyšší koncentrací HDL cholesterolu u žen. (Češka, 2012)

2.3.3 Genetické faktory, rodinná anamnéza

Za pozitivní rodinnou anamnézu předčasné manifestace aterosklerózy je bráno, když se u otce nebo prvostupňového mužského příbuzného ve věku nižším než 55 let vyskytne infarkt myokardu nebo náhlá smrt důsledkem předčasné aterosklerózy. U matky či prvostupňové příbuzné ženského pohlaví je toto kritérium stejné, ovšem věková hranice je 60 let. (Češka, 2012)

3 LDL-CHOLESTEROL JAKO KLÍČOVÝ RIZIKOVÝ FAKTOR ATEROSKLERÓZY

Chemie popisuje cholesterol jako derivát cyklopentanoperhydrofenantrenu. Jedná se o sterol, protože má na svém třetím uhlíku v poloze β navázanou hydroxylovou skupinu. Cholesterol je jednou ze složek buněčných membrán a v menším množství se nachází v biomembránách nitrobuněčných organel. Dále cholesterol slouží jako metabolický prekurzor steroidních hormonů a primárních žlučových kyselin. Mezi žlučové kyseliny patří kyselina chenodeoxycholová a kyselina cholová, které vznikají v játrech přeměnou cholesterolu. Ve velké míře je cholesterol zastoupen v lipoproteinech krevní plazmy. V krevní plazmě se může až 70 % cholesterolu esterifikovat. Po této reakci vzniknou estery cholesterolu, které jsou transportní a zásobní formou cholesterolu v lidském těle. Cholesterol v buňkách je esenciální a nezbytná látka, ale problémem je, pokud je zvýšená hladina cholesterolu nikoliv v buňkách, ale v krvi. Pak je totiž chemicky modifikován, pohlcován makrofágy, které se usazují ve stěnách tepen jako pěníte buňky. (Zima, 2013)

Epidemiologické studie během posledních padesáti let zjistily, že riziko komplikace aterosklerózy se zvyšuje spolu s rostoucí koncentrací cholesterolu v krvi a výrazný nárůst nastává od koncentrace celkového cholesterolu 5,0 mmol/L (resp. LDL-cholesterolu od 3,0 mmol/L). Musíme brát ohled na to, že referenční rozmezí v klinické biochemii jsou obvykle stanovena jako interval, ve kterém leží 95 % výsledků referenční populace (2,5. – 97,5. percentil). Průměrné hodnoty celkového cholesterolu, LDL-cholesterolu, triglyceridů a apo B jsou v naší i evropské populaci vyšší než hodnoty optimální pro prevenci KVO. Právě tyto aspekty mohou vést ošetřujícího lékaře k chybné diagnostické rozvaze a pozdní či nesprávné léčbě. Ke každému pacientovi je třeba přistupovat přísně individuálně. Individuální přístup zahrnuje posouzení celkového kardiovaskulárního rizika, zhodnocení koncentrace LDL-cholesterolu ve vztahu ke koncentraci HDL-cholesterolu a apo B, zohlednění koncentrace triglyceridů, zohlednění přítomnosti dalších rizikových faktorů, použití přísnějších kritérií u pacientů s ischemickou chorobou srdeční a vyloučení sekundárních dyslipidemií. (Soška a kol., 2010)

V tabulce 3 jsou znázorněny průměrné hodnoty celkového cholesterolu u mužů a žen vztažené k věku. Hodnoty platí pro českou populaci.

Tabulka 3: Průměrné hodnoty celkového cholesterolu v populaci České republiky

Muži				
Věk	25–34	35–44	45–54	55–64
Průměr ± SD	4,81 ± 0,88	5,27 ± 1,016	5,498 ± 1,12	5,38 ± 1,17
Ženy				
Věk	25–34	35–44	45–54	55–64
Průměr ± SD	4,67 ± 0,86	4,99 ± 0,90	5,44 ± 0,97	5,73 ± 1,05

Zdroj: Soška a kol., 2010

3.1 Plazmatické lipoproteiny, definice LDL

Plazmatické lipoproteiny charakterizujeme jako částice podobající se micelám. Jsou to makromolekulární komplexy, které tvoří specifické proteiny a s nimi spjaté lipidy. Jejich funkcí je transport lipidů ve vodném prostředí, tedy v plazmě. Lipoproteiny se skládají z obalu a jádra, které tvoří estery cholesterolu a triglyceridy. Poté, co se spojí specifické bílkoviny (apolipoproteiny) a strukturální lipidy, vznikne jednovrstevná membrána částice. Lipoproteiny mají určité fyzikálně-chemické vlastnosti, a to hustotu (denzitu) a elektroforetickou pohyblivost, podle kterých se rozdělují do několika skupin. Obecně platí, že čím má částice větší hustotu, tím je menší. K hlavním lipoproteinům patří: (Zima, 2013)

- lipoproteiny o vysoké hustotě, které se značí HDL (high-density lipoproteins)
- lipoproteiny o nízké hustotě, které se značí LDL (low-density lipoproteins)
- lipoproteiny o střední hustotě, které se značí IDL (intermediate-density lipoproteins)
- lipoproteiny o velmi nízké hustotě, které se značí VLDL (very low-density lipoproteins)
- chylomikrony (největší částice, ale mají nejmenší hustotu)

LDL představují hlavní typ lipoproteinů, které transportují cholesterol. Vznikají z IDL v játrech ochuzením o část triglyceridů činností jaterní lipázy, která je přítomna v kapilárním řečišti, kde je vázána na vnitřní povrch endotelových buněk. Z IDL jsou odstraněny všechny apolipoproteiny (apo C a apo E) kromě apo B-100. (Štern, 2011) LDL jsou z plazmy odstraňovány především pomocí specifických receptorů v membráně buněk. Zhruba 75 % LDL je vycycháno játry, ostatní LDL pak jinými tkáněmi. (Racek, 2006)

LDL tvoří zhruba 1500 molekul esterů cholesterolu a kolem nich je plášť, který se skládá z 800 molekul fosfolipidů, 500 molekul volného cholesterolu a jedné molekuly apo B-100. (Bureš, 2014) Apo B-100 je ligandem pro LDL receptory hepatocytu i buněk periferních tkání. (Štern, 2011)

LDL částici můžeme rozlišit do třech skupin podle velikosti a denzity. LDL-I (velké) mají velikost 26-27,5 nm a denzitu 1,02-1,03 kg/L, LDL-II (intermediární) jsou velké 25-26 nm a o denzitě 1,03-1,04 kg/L a poslední skupina je LDL-III (malé denzní), které měří 25 nm a mají denzitu 1,04-1,06 kg/L. Největší aterogenní vliv mají LDL-III, protože snadněji pronikají arteriální intimou díky svojí hodně malé velikosti, a také vzhledem ke změně konfigurace apo B-100. (Češka, 2012) Malé částice jsou špatně rozpoznávány LDL receptorem, což má za následek jejich snížené vychytávání z krve do tkání. Proto také mají malé denzní LDL větší aterogenní aktivitu, protože se prodlužuje jejich doba v oběhu. Dále také lépe podléhají oxidaci a tím přispívají k rychlejšímu aterosklerotickému průběhu. (Schulte, 2018)

3.2 LDL princip aterosklerózy

Změna koncentrace a složení plazmatických lipidů a plazmatických lipoproteinů se pojí s vysokým počtem onemocnění. Tyto změny u lipoproteinových tříd mají největší dopad u dyslipidemie a zapříčiňují i klinické komplikace aterosklerózy. (Zima, 2013)

Lipidová teorie se zakládá na tom, že mechanismus, který můžeme pozorovat při rozvoji aterosklerózy je infiltrace cévní stěny lipidy. Z hlediska tohoto onemocnění mají nejdůležitější postavení LDL, které jsou běžně v plazmě, ovšem při zvýšení jejich koncentrace pronikají do cévní intimy a jsou nahromaděny v makrofázích a buňkách hladké svaloviny cév. Buňky cévní intimy umí do určitého množství LDL degradovat, ovšem při překročení meze degradace dochází k akumulaci lipidů. Lipidy se hromadí ve formě esterů cholesterolu, dále jejich větší množství najdeme intracelulárně a poslední modifikací lipidů je v pěnové buňky, což jsou přeměněné makrofágy a buňky hladké svaloviny. Pokud pěnové buňky takhle vzniknou, jsou základem ateromové léze. Schopnost tvořit léze mají i IDL a některé VLDL. (Bureš, 2014)

Další teorie je o modifikovaném lipoproteinu o nízké denzitě. Za běžných okolností je LDL vychytáván specifickými LDL-receptory, které jsou v periferních tkáních. Cholesterol se pak využívá k výstavě a strukturálním opravám membrán buňky. Správná funkce cholesterolu záleží na dvou hlavních podmínkách. Musí být dostatek funkčních receptorů

v buňkách periferie a nesmí být porušená část apo B, která reaguje s receptorem. Jestliže je molekula lipoproteinů poškozená nebo modifikovaná, receptor v periférii nemůže částici rozpoznat. Poškození molekuly je zapříčiněno aktivními formami kyslíku nebo glykací při vysokých koncentracích glukózy ve vnitřním prostředí. Zvýšená tvorba aktivních forem kyslíku se vyskytuje v organismu při zánětu nebo při nedostatku přirozených antioxidantů z potravy. Poškození LDL aktivní formou kyslíku probíhá ve dvou krocích. V první fázi mění LDL svou lipidní strukturu a polynenasycené mastné kyseliny se změní v lipoperoxidy. Kvůli této přeměně ztrácí mastné kyseliny své vlastnosti, které jsou důležité pro normální průběh metabolických dějů. LDL se stává lehce oxidovaný, a tak lipoperoxidy mohou uvolňovat řadu substancí, dále mohou spouštět zánětlivý proces, adhezi trombocytů, spouští koagulační kaskádu a stimulují přeměnu monocytů na makrofágy. Když se podíváme na aterosklerózu tímto pohledem, můžeme říct, že má rysy zánětu. Mediátory vznikající vlivem modifikovaného LDL, který má toxický účinek na endotel, vyvolají proliferaci endoteliálních buněk. Pokud je poškození lipoproteinové molekuly stále intenzivnější, následuje druhý krok, ve kterém dochází k rozpadu proteinové části lipoproteinu, a tedy k poškození specifického apolipoproteinu, který je důležitý pro vazbu na normální LDL-receptor. Změnou dojde k tomu, že molekulu LDL mohou vychytat makrofágy, kteří se ireverzibilně přemění na pěnovou buňku. (Bureš, 2014)

Bylo zjištěno, že oxidace LDL probíhá hlavně ve stěně cév. Dříve se předpokládalo, že se tento děj uskutečňuje v plazmě, ovšem zde tomu brání vysoká koncentrace antioxidantů. V subendotelovém prostoru již nemohou antioxidanty LDL chránit. Aby mohly LDL proniknout do cévní stěny přes endotel, musí být poškozen. Jelikož endotel poškozením ztrácí svoji funkci, označujeme tento děj jako endotelovou dysfunkci, kterou může způsobit právě samotné oxidované LDL, ale i řada vlivů zevního prostředí jako jsou vysoký tlak v tepně, turbulentní proudění krve, volné radikály a zánět. Dále vykazují LDL i vlastní biologické účinky, dokonce mnohé z nich mají přímý vztah k ateroskleróze a výrazně ho podporují. Souhrn biologických účinků je shrnut v tabulce 4. Oxidované LDL zahajují a podporují zánětlivý proces v cévní stěně. V tabulce 5 je výčet prozánětlivého působení modifikovaného LDL. (Racek, 2010)

Tabulka 4: *Biologické účinky oxidovaných LDL*

Stimulace produkce volných radikálů; ty mají potenciál poškozovat buňky a vyvolávat zánětlivou reakci.
Stimulace exprese CD40 (významný pro imunitní a zánětlivou odpověď T i B lymfocytů)
Podpora adheze leukocytů prostřednictvím adhezních molekul a chemokinů
Upregulace genů, kódujících zánětlivé cytokiny (IL-6, TNF-α), CRP a fibrinogen
Vznik imunokomplexů (s AboxLDL) vede rovněž k buněčné zánětlivé odpovědi.

Zdroj: Racek, 2010

Tabulka 5: *Prozánětlivé účinky LDL*

Stimulují uvolnění M-CSF (monocyte colony stimulating factor); ten vede k diferenciaci monocytů na makrofágy.
Indukují proliferaci hladkých svalů cévní stěny a tedy její zesílení.
Vyvolávají poškození endotelových buněk až jejich apoptózu; dostávají se do nich prostřednictvím LOX-1 (lectin-like oxidized LDL receptor 1), jehož exprese je stimulována působením oxLDL.
Inhibují diferenciaci kmenových buněk v progenitorové endotelové buňky, tím brání možné reparaci poškozeného endotelu.
Snižují expresi genu pro endotelovou NOS (eNOS); nízká koncentrace NO stimuluje proliferaci hladké svaloviny cévní stěny, vede k vazokonstrikci a podporuje agregaci trombocytů.

Zdroj: Racek, 2010

LDL princip dokazují studie IMPROVET-IT a FOURIER. Hlavním cílem studie FOURIER bylo snížit koncentrace LDL-cholesterolu, případně non-HDL cholesterolu u pacientů, kteří již jsou léčeni statiny, a i přesto mají hodnoty LDL-cholesterolu nad 1,8 mmol/L a hodnoty non-HDL cholesterolu nad 2,6 mmol/L. Bylo dokázáno, že v kombinaci statinů s inhibitory PCSK9 (např. evolocumab) došlo k poklesu LDL-cholesterolu o téměř 60 % během dvouleté léčby. Díky poklesu LDL-cholesterolu se primární cílový ukazatel (kardiovaskulární úmrtí, infarkt myokardu a cévní mozková příhoda, hospitalizace pro nestabilní anginu pectoris a nutnost revaskularizace) snížil o 15 %. Sekundární cílový ukazatel (kardiovaskulární úmrtí, infarkt myokardu a cévní mozková příhoda) byl redukován o 20 %. Závěrem obou studií bylo, že platí pravidlo, že čím je koncentrace LDL-cholesterolu menší, tím je to pro pacienta výhodnější. (Češka, 2017)

3.3 Metody stanovení LDL-cholesterolu

Stanovení celkového cholesterolu, triglyceridů a HDL-cholesterolu patří mezi standardizovaná a spolehlivá vyšetření, zatímco stanovení LDL-cholesterolu zůstává stále problematickým vyšetřením. K hlavním důvodům patří heterogenita LDL částic a nejasně daná ostrá hranice mezi VLDL, IDL a LDL, protože při svém katabolizmu v krvi se mění plynule jedna v druhou. V současné době existují dva hlavní postupy ke zjištění koncentrace LDL-cholesterolu v krvi, a to výpočet (nepřímé stanovení) a přímě měření. Oba tyto postupy mají své výhody i nevýhody. (Soška, 2008)

3.3.1 Nepřímé stanovení LDL-cholesterolu

První zmínka o výpočtení LDL-cholesterolu podle Friedewalda pochází z roku 1972 a používá se i v současnosti, protože je to jednoduché a dostatečně spolehlivé, ovšem jen když je pacient nalačno, jinak by mohly být naměřené hodnoty falešné. Výpočet je dán těmito fakty: celkový cholesterol v krvi je součet cholesterolu obsaženého v částicích VLDL, IDL, LDL a HDL. Koncentrace IDL částic v krvi je téměř vždy zanedbatelná, a proto vzorec nebere tento parametr jako důležitý pro výpočet. Platí tedy:

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{celkový cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + \text{VLDL-cholesterol})$$

Stanovit koncentraci VLDL-cholesterolu je velmi obtížné, a proto byl zvolen jiný přístup, jak zjistit zastoupení koncentrace VLDL-cholesterolu. Friedewaldův výpočet vychází z faktu, že částice VLDL obsahují většinu triglyceridů v krvi. Toto je splněno za předpokladu, že pacientovi je odebrána krev nalačno, tudíž nemá v krvi chylomikra a sérum není chylózní. Potom v této situaci je poměr mezi koncentrací triglyceridů a cholesterolu ve VLDL zhruba 2,2:1. Z toho vyplývá, že koncentraci VLDL-cholesterolu můžeme nahradit koncentrací triglyceridů podělenou číslem 2,2. Vzorec pak vypadá takto:

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{celkový cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + \text{triglyceridy}/2,2)$$

Výpočet neplatí za situace, kdy koncentrace triglyceridů je nad 4,5 mmol/L. Při této koncentraci bývají částice VLDL atypicky velké, dochází ke změně poměru molární koncentrace VLDL-cholesterolu a triglyceridů a někdy jsou i přítomna chylomikra. Použití Friedewaldova vzorce je tedy omezeno koncentrací triglyceridů, přítomností chylomiker v krvi a přítomností IDL, které nalezneme u vzácné nemoci dysbetalipoproteinemie. Při dodržení těchto omezení bychom měli dostat relativně velmi spolehlivý výsledek koncentrace LDL-cholesterolu v krvi. (Soška, 2008)

3.3.2 Přímé stanovení LDL-cholesterolu

Přímé stanovení LDL-cholesterolu je založeno na principu separace částic LDL v krvi od ostatních lipoproteinů pomocí různých pomocných látek a změřit tak obsah cholesterolu v takto získané frakci. To je ale ve skutečnosti velmi obtížné díky plynulému přechodu částic mezi sebou a pro heterogenitu LDL. Měření je omezeno koncentrací triglyceridů větší než 11 mmol/L, protože taková koncentrace vnáší již do měření chybu. Při porovnání přímého a nepřímého stanovení LDL-cholesterolu zjistíme, že přímé stanovení udává vyšší hodnotu LDL-cholesterolu. Ovšem nelze říci, co je správné, protože ani jedna z metod není brána jako referenční. V současné době se za referenční metodu považuje β -kvantifikace, což je stanovení LDL-cholesterolu pomocí preparativní ultracentrifugace, kdy jsou děleny lipoproteiny podle svojí denzity. Ale ani tato metoda není přesná kvůli heterogenitě LDL částic. Jediný způsob, jak správně oddělit lipoproteiny je podle přítomnosti jednotlivých apolipoproteinů. Jediná LDL částice nese jen jeden apolipoprotein, a tím je apolipoprotein B-100. Ostatní lipoproteiny obsahují více typů apolipoproteinů. (Soška, 2008)

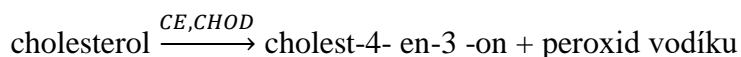
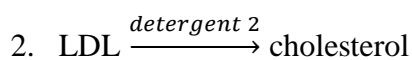
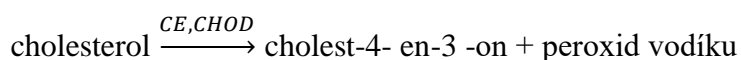
Z klinického hlediska je porovnání přímého a nepřímého stanovení LDL-cholesterolu důležité proto, že cílové hodnoty LDL-cholesterolu byly získány pro všechna doporučení nepřímou metodou, což je i levnější způsob stanovení LDL-cholesterolu než přímé stanovení. Z pohledu klinika je zde i otázkou, jestli je nutné znát hladiny LDL-cholesterolu u lidí, kteří mají zvýšenou koncentraci triglyceridů nad 4,5 mmol/L. Před nasazením hypolipidemik je u osob v primární prevenci důležitý odhad rizika. K tomuto odhadu stačí znát hladinu celkového cholesterolu nebo poměr celkový cholesterol/HDL-cholesterol. Pro Evropu včetně ČR tento odhad udávají tabulky SCORE. (Soška, 2008) Podle nejnovějších doporučení se již poměr nepoužívá. (Vrablík, 2019)

Hodnotu LDL-cholesterolu je nutné znát u lidí, kteří se léčí hypolipidemiky, protože hlavním cílem léčby je právě hodnota LDL-cholesterolu. Podle doporučení má být u pacientů, kteří mají koncentraci triglyceridů nad 4,5 mmol/L použit místo LDL-cholesterolu náhradní cílový parametr, kterým je buď non HDL-cholesterol (non HDL-cholesterol = celkový cholesterol – HDL-cholesterol), nebo apo B. (Soška, 2008)

Hromadné studie naznačují, že non HDL-cholesterol a apo B jsou lepším ukazatelem v předvídání aterogenního rizika než LDL-cholesterol. Non HDL-cholesterol je měřítkem obsahu cholesterolu v lipoproteinech, které obsahují apo B. Na rozdíl od LDL-cholesterolu zahrnuje složku aterogenního rizika zbytků lipoproteinů, jmenovitě pak IDL a zbytků chy-

lomikronů. Non HDL-cholesterol lze změřit jak na lačno, tak i bez lačnění. V běžných případech se lipidový profil jako ukazatel hodnocení rizika aterosklerózy měří na lačno. Další výhodou non HDL-cholesterolu je, že jeho měření není závislé na koncentraci triglyceridů. (Carr, 2019)

Štern (2011) popisuje jednu z metod na stanovení LDL-cholesterolu, která se skládá ze dvou kroků. V první fázi se pomocí detergentu 1 uvolní cholesterol z chylomikronů, VLDL a HDL (všechny lipoproteinové částice kromě LDL). Uvolněný cholesterol je přeměněn pomocí enzymů až na 4-cholesten-3-on a peroxid vodíku. Ve druhé fázi jiný detergent uvolní cholesterol z LDL a ten je poté stanoven. Pomocí rovnic lze přímé stanovení LDL-cholesterolu zapsat takto:



PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem práce je porovnat naměřené hodnoty LDL cholesterolu přímou a nepřímou metodou. Dále chceme zjistit, kdy se hodnoty budou shodovat a kdy budou odlišné. Ověříme si, jestli platí omezení, jaké popisují v kapitolách 3.3.1 a 3.3.2.

4.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem práce je porovnat hodnoty LDL-cholesterolu získané jeho přímým měřením s hodnotami získanými jeho výpočtem podle Friedewaldovy rovnice a vyjádřit se k tomu, zda jsou shodné, případně o kolik se liší. Dalším cílem je identifikovat faktory, které případně vedou k rozdílným hodnotám.

4.2 Dílčí cíle

1. Dílčí cíl je seznámit se s metodami na stanovení lipidů a přístrojovým vybavením v laboratoři a se základní statistikou.
2. Další dílčí cíl je poznat naši populaci z hlediska věku, pohlaví a hodnot lipidů.

5 VÝZKUMNÉ OTÁZKY

Výzkumná otázka číslo 1: Jaké budou rozdíly mezi hodnotami LDL-cholesterolu získanými přímou metodou a nepřímou?

Výzkumná otázka číslo 2: Jaké faktory způsobí případný rozdíl mezi těmito stanoveními?

6 METODIKA PRÁCE A POUŽITÉ PŘÍSTROJE

Porovnávala jsem mezi sebou dvě metody, a to přímé stanovení a nepřímé stanovení LDL-cholesterolu. Přímé stanovení probíhalo na analyzátoru AU480 od firmy Beckman Coulter, který měří koncentraci LDL-cholesterolu v lidském séru a heparinizované plazmě. Stabilita analytu je 7 dní při skladování při teplotě 2–8 °C a po 1 den při skladování při teplotě 15–25 °C. Enzymatický barevný test pro kvantitativní stanovení se dělá jen pro diagnostické použití in vitro. Nepřímá metoda stanovení LDL-cholesterolu se zakládá na principu Friedewaldovy rovnice, která je ovšem omezena koncentrací triglyceridů ve vzorku.

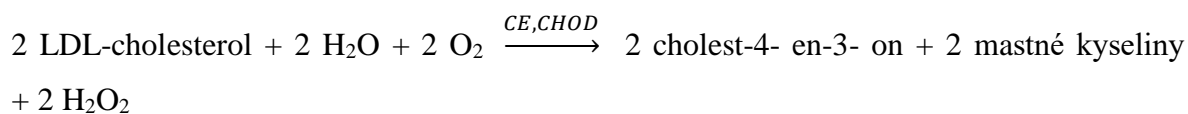
6.1 Použitá metoda nepřímého stanovení LDL-cholesterolu

Analyzátory Beckman Coulter automaticky vypočítají koncentraci LDL-cholesterolu v každém vzorku. Koncentraci LDL-cholesterolu si můžeme vypočítat i sami, pokud známe koncentraci triglyceridů, celkového cholesterolu a HDL-cholesterolu. Pak už jen stačí dosadit do vzorce Friedewaldovy rovnice, která je popsána v kapitole 3.3.1.

6.2 Použitá metoda přímého stanovení LDL-cholesterolu

Princip enzymatického barevného testu je následující: ochranná reagensie v R1 chrání LDL-cholesterol ve vzorku před enzymatickými reakcemi. Všechny lipoproteiny jiné třídy, než je LDL, to je HDL, IDL, VLDL a chylomikrony se rozkládají reakcí s cholesterolesterázou a cholesteroxidázou. Peroxid vodíku vyprodukovaný touto reakcí je rozložen katalázou obsaženou v R1. Po přidání R2 se ochranná reagensie uvolní z LDL a kataláza z R1 je inaktivována azidem sodným. Pak LDL cholesterol podléhá enzymatickým reakcím s CE a CHOD, následně se stanoví vzniklý peroxid vodíku v reakci za přítomnosti peroxidázy.

Princip reakce fáze R2:



6.2.1 Složení reagensie v testu

Konečná koncentrace reaktivních složek:

Cholesterolesteráza	3,7 IU/mL
Cholesteroxidáza	3,7 IU/mL
Peroxidáza	4,9 IU/mL
Azid sodný	0,1 %
Goodův pufr (pH 6,8)	25 mmol/L
4-aminoantipyrin	0,8 mmol/L
Kataláza	743 IU/mL
HDAOS	0,47 mmol/L

Detergenty

Reagensie jsou připraveny k použití a mohou být umístěny přímo v přístroji. Reagensie jsou stabilní, chráněné před světlem, neotevřené, do uvedené doby spotřeby při skladování při teplotě 2–8 °C. Po otevření jsou reagensie uloženy v přístroji stabilní po dobu 30 dní. Při skladování v analyzátoru se může barva reagensie R1 změnit na světle zelenou. Funkčnost reagensie tím není dotčena.

6.2.2 Příprava reagensií

Reagensie LDL-cholesterol je dodávána v kapalném stavu, připravená k přímému použití a umístění do analyzátoru v původním obalu od výrobce. Neotevřené reagensie jsou stabilní při 15–25 °C do doby expirace vyznačené na obalu, po otevření a umístění v analyzátoru jsou stabilní po dobu 30 dnů. Při skladování v analyzátoru se může barva reagensie R2 změnit na světle zelenou, ovšem funkčnost reagensie tím není dotčena.

Reagensie LDL-cholesterol Calibrator, LDL Control Level 1 a LDL Control Level 2 musí mít před otevřením pokojovou teplotou, aby v ampulce nedocházelo ke kondenzaci. Poklepáním na horní část láhve se uvolní lyofylizovaný materiál zachycený v zátce. Do láhve se přidá 5,0 ml čerstvé deionizované vody o pokojové teplotě. Láhev třikrát obrátíme a necháme stát po dobu 10 minut. Obsah se úplně rozpustí opatrným mícháním

po dobu 30 minut. Nespoteřbovaný kalibrátor se rozpipetuje do kepek Eppendorf, popíše a zamrazí.

6.2.3 Omezení a interference výsledků

Pokud množství triglyceridů ve vzorku přesahuje koncentraci 11,3 mmol/L (1000 mg/dL), musí se vzorek rozředit fyziologickým roztokem, zopakuje se kvantitativní stanovení a výsledek vynásobíme koeficientem zředění. Vzorky od pacientů s hyperlipoproteinemií typu III dávají výsledky lišící se od referenční metody (systematická chyba + 30 %). Umělé směsi lipidů, obsažené např. v některých roztocích pro intravenózní infuzi, mohou reagenzii blokovat. Vzorky od pacientů, kteří dostávají tyto lipidové směsi, by neměly být na LDL-cholesterol tímto kvantitativním stanovením analyzovány.

Interferenci výsledku mohou způsobit následující látky:

Ikterus: Interference menší než 5 % při max. 40 mg/dL nebo 684 μ mol/L bilirubinu

Hemolýza: Interference menší než 5 % při max. 5 g/L hemoglobinu

Askorbát: Interference menší než 3 % při max. 20 mg/dL askorbátu

Triglycerid: Interference menší než 10 % při max. 11,3 mmol/L triglyceridu

Ve velmi vzácných případech může gamapatie, zejména monoklonální gamapatie IgM (Waldenströмова makroglobulinémie), vést k nespolehlivým výsledkům.

6.2.4 Vyhodnocení výsledků naměřených přímou metodou

Vyhodnocení se řídí pokyny programu NCEP (National Cholesterol Education Program). Očekávané hodnoty se mohou lišit podle věku, pohlaví, typu vzorku, diety a zeměpisné polohy. Každá laboratoř musí ověřit, zda očekávané hodnoty lze převést na vlastní populaci, a v případě potřeby si v souladu se správnou laboratorní praxí stanovit vlastní referenční rozsah. Pro diagnostické účely je třeba výsledky vždy vyhodnotit v kontextu s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými nálezy.

Výpočet koncentrace LDL-cholesterolu ve vzorku je prováděn automaticky softwarem analyzátoru pomocí kalibračního faktoru a po odsouhlasení obsluhou analyzátoru přenesen do LIS. Výsledky se vydávají číselně na dvě desetinná místa v jednotkách mmol/L. Výsledky jsou trvale archivovány v LIS, a pravidelně zálohovány v počítači analyzátoru.

6.3 Použité přístroje

Pro stanovení hladiny LDL-cholesterolu byl použit přístroj Beckman Coulter AU480, což je biochemický analyzátor pro analýzu složek krve a moče. Automaticky vykonává většinu operací, jako je přenášení vzorku, reagensů, jejich míchání, fotometrické měření a mnoho dalšího.

Tento systém měří opticky složky vzorku (sérum, plazma nebo moč). Nejprve je pipetován vzorek, pak je ke vzorku přidána reagensie. Po promíchání vzorku s reagensií měří systém absorbanci vzorku, ve kterém dochází k reakci. Na závěr je počítána optická denzita vzorku z naměřené absorbance.

6.3.1 Popis přístroje

Analyzátor Beckman Coulter AU480 má následující části: prostor pro vzorky, čtečka čárových kódů, jednotka fotometrie, jednotka STAT rotoru, jednotka ISE, chladicí jednotka na reagensie, míchací jednotka, mycí jednotka, jednotka pro přenos vzorků, inkubátor, jednotka peristaltického čerpadla a napájecí jednotku.

Obrázek 2: Přístroj Beckman Coulter AU480



Zdroj: vlastní

7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU PACIENTŮ

Výzkum proběhl v dubnu v roce 2017, kdy se v laboratoři Synlab v Plzni u 200 pacientů změřila koncentrace triglyceridů, HDL-cholesterolu, celkového cholesterolu a LDL-cholesterolu. Výzkumu se zúčastnilo 112 mužů ve věku od 19 do 88 let a 88 žen ve věkovém rozmezí 19 až 86 let. Všechny naměřené koncentrace jsme zapisovali do tabulky. Tabulka vždy obsahuje koncentraci triglyceridů (TG), celkového cholesterolu (CHOL), HDL-cholesterolu (HDL-CH), LDL-cholesterolu (LDL-CH přímo), který byl změřen analyzáto-rem Beckman Coulter AU480 a koncentraci LDL-cholesterolu (LDL-CH výpočtem), která byla vypočtena Friedewaldovou rovnicí. Vzorec rovnice je $CHOL - HDL-CH - (TG/2,2)$, takže pokud je například celkový cholesterol 4,1 mmol/L, HDL-cholesterol 2,0 mmol/L a triglyceridy 0,65 mmol/L, po dosazení do rovnice dostaneme koncentraci LDL-cholesterolu, která je 1,80 mmol/L. Analyzátor koncentraci LDL-cholesterolu umí změřit i přímo, a my tak můžeme porovnat obě hodnoty porovnat pomocí programu MS Excel.

Kromě pohlaví a věku, je také důležité znát koncentrace triglyceridů, CHOL, HDL-CH a LDL-CH, abychom určili, jestli pacient má nebo nemá jeden ze tří typů dyslipidemie, které popisuje kapitola 2.2.1. Jedná se tedy o izolovanou hypercholesterolemii, izolovanou hypertriglyceridemií a smíšenou hyperlipidemií. Dále nás také bude zajímat hodnota HDL-cholesterolu, hlavně tedy jeho dolní hranice. 20 % pacientů má izolovanou hypercholesterolemii, což znamená, že mají koncentraci triglyceridů $< 1,7$ mmol/L a zároveň koncentrace celkového cholesterolu je $> 5,0$ mmol/L. 13 % pacientů má izolovanou hypertriglyceridemií, pro kterou je typická zvýšená koncentrace TG nad 1,7 mmol/L a zároveň hodnota cholesterolu je do 5,0 mmol/L. Smíšenou hyperlipidemií má 46 % pacientů, a ta se vyznačuje koncentrací TG nad 1,7 mmol/L a cholesterolem nad 5,0 mmol/L. Nízkou koncentraci HDL-cholesterolu mělo 20 % mužů, pro které je stanovená dolní referenční mez 1,0 mmol/L a 27 % žen, pro které je dolní hranice 1,2 mmol/L.

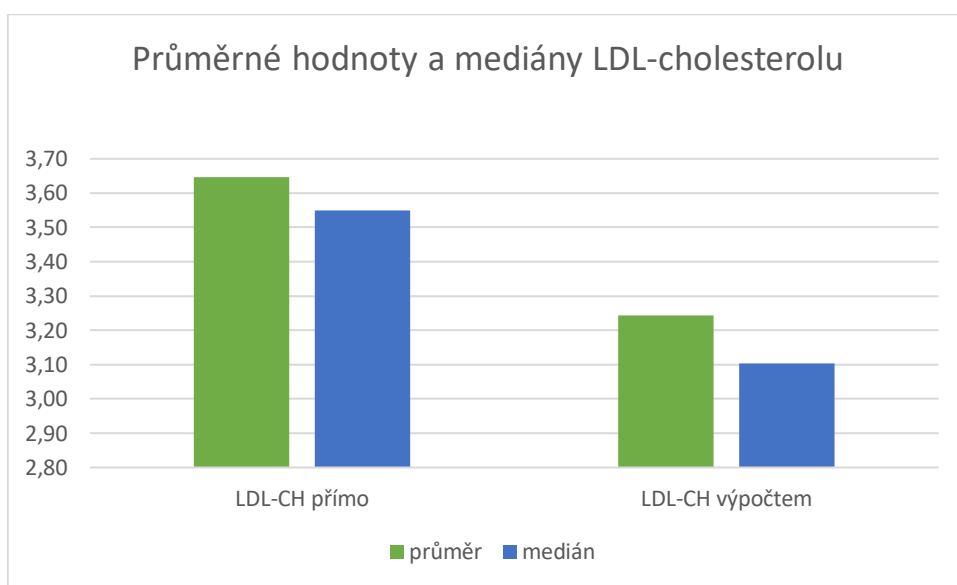
Pacienty jsem roztrídila do 7 skupin pro lepší přehlednost a porovnání výsledků LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou. V první skupině se nacházejí pacienti, kteří mají koncentraci triglyceridů v rozmezí 0–0,99 mmol/L, ve druhé skupině jsou pacienti s koncentrací 1,0–1,49 mmol/L a o této skupině by se dalo říct, že je nejpočetnější. Třetí skupina zaznamenává pacienty s koncentrací triglyceridů od 1,5 mmol/L do 1,99 mmol/L a čtvrtá skupina potom koncentraci triglyceridů od 2,0 mmol/L do 2,99 mmol/L. V páté

skupině najdeme pacienty, kteří mají koncentraci triglyceridů v rozmezí 3,0 mmol/L až 3,99 mmol/L. Předposlední skupina obsahuje pacienty, kteří mají koncentraci triglyceridů 4-4,99 mmol/L a do poslední skupiny, která je nejmenší, jsem zapsala pacienty s koncentrací triglyceridů 5 mmol/L a více.

8 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Nejdříve jsem zjistila, jestli se hodnoty LDL-cholesterolu naměřeného a vypočteného liší nebo jsou si podobné, a potom se budu zabývat faktory, kterou mohou vést k rozdílu hodnot. Průměrná koncentrace LDL-cholesterolu naměřená přímo je $3,65 \pm 0,96$ mmol/L a medián je 3,55 mmol/L. Průměrná koncentrace pro LDL-cholesterol, která byla vypočtena je $3,24 \pm 1,08$ mmol/L a medián je 3,10 mmol/L. Již zde jsou vidět rozdíly, které jsem pro lepší znázornění dala do následujícího grafu číslo 1.

Graf 1: Porovnání průměrných hodnot a mediánů LDL-cholesterolu pro přímou a nepřímou metodu

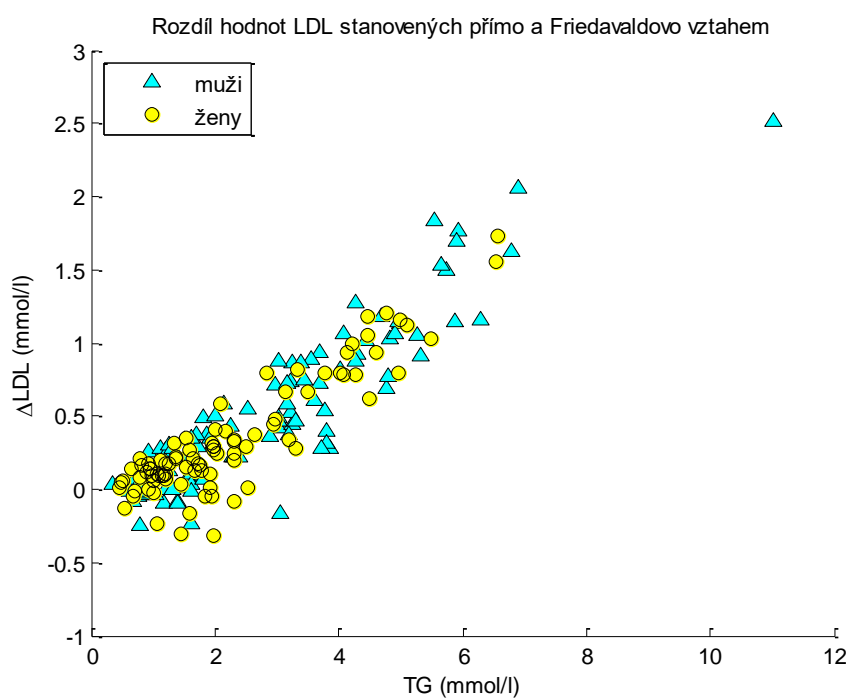


Tabulka 6: Korelace mezi jednotlivými údaji

	věk	pohlaví	TG	CHOL	HDL	LDL přímo	LDL výpočtem	Δ LDL
věk	1,00	-0,11	-0,04	0,00	-0,06	0,03	0,05	-0,06
pohlaví	-0,11	1,00	0,14	-0,10	-0,25	-0,08	-0,14	0,15
TG	-0,04	0,14	1,00	0,32	-0,48	0,25	-0,18	0,91
CHOL	0,00	-0,10	0,32	1,00	0,21	0,97	0,85	-0,02
HDL	-0,06	-0,25	-0,48	0,21	1,00	0,08	0,27	-0,46
LDL přímo	0,03	-0,08	0,25	0,97	0,08	1,00	0,90	-0,09
LDL výpočtem	0,05	-0,14	-0,18	0,85	0,27	0,90	1,00	-0,51
Δ LDL	-0,06	0,15	0,91	-0,02	-0,46	-0,09	-0,51	1,00

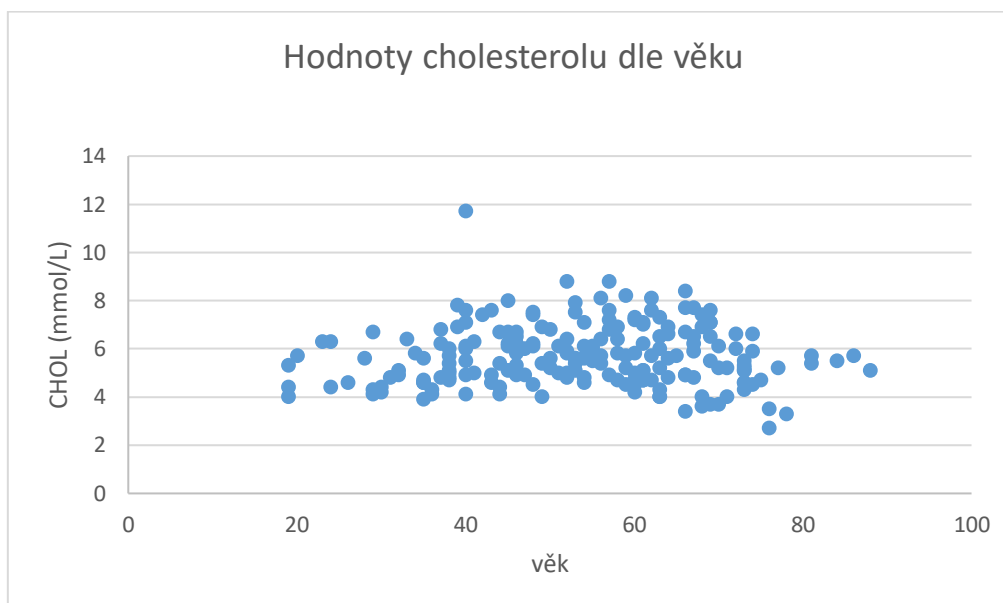
V tabulce číslo 6 jsou zaznamenány jednotlivé korelace mezi každým údajem zvlášť. Tyto údaje lze zjistit pomocí programu MS Excel, ve kterém je funkce Pearson, a pomocí této funkce jsem tak mohla najít korelace mezi sledovanými hodnotami. Korelační koeficient má zkratku R, a pokud nabývá hodnot blížících se k 1 nebo -1, bude korelace mezi proměnnými těsnější. V tabulce jsem takové hodnoty zvýraznila červeně. Největší korelace je mezi cholesterolem a LDL-cholesterolem a také mezi triglyceridy a Δ LDL (rozdíl mezi hodnotami LDL-cholesterolu přímo a výpočtem). Naopak téměř žádné korelace jsou s věkem.

Graf 2: Korelace rozdílu LDL-CH a triglyceridů



Pro lepší představu jsem korelaci hodnot triglyceridů a Δ LDL dala do grafu číslo 2. Hodnota triglyceridů je důležitá z toho důvodu, že když budeme v praxi zjišťovat LDL-cholesterol pomocí Friedewaldovy rovnice, tak je omezena koncentrací triglyceridů. Z tabulky číslo 6 je již známo, že korelační koeficient je 0,91.

Graf 3: Korelace cholesterolu s věkem



Graf číslo 3 ukazuje hodnoty cholesterolu v závislosti na věku. Zde je vidět, že koncentrace cholesterolu se s věkem nemění. Lidé ve 40 letech mají stejné hodnoty cholesterolu jako lidé v 60 letech.

Abych mohla lépe mezi sebou porovnat výsledky a zjistit rozdíly mezi hodnotami LDL-cholesterolu změřeného (přímá metoda) a vypočítaného (nepřímá metoda), vytvořila jsem tabulky číslo 7–13. V nich jsou zaznamenány hodnoty TG, CHOL, HDL-CH, LDL-CH naměřeného přímo a LDL-CH zjištěného výpočtem.

Tabulka 7: Pacienti s koncentrací triglyceridů 0,0-0,99 mmol/L

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
0,34	4,6	2,08	2,4	2,37
0,47	4,8	2,17	2,43	2,42
0,49	5,8	2,5	3,13	3,08
0,52	3,9	1,45	2,27	2,21
0,55	5,1	1,94	2,78	2,91
0,63	5,3	1,91	3,09	3,10
0,65	4,1	2,0	1,94	1,80
0,67	5,6	1,98	3,24	3,32
0,68	5,2	1,57	3,27	3,32
0,71	4,9	1,84	2,73	2,74
0,71	4,4	1,5	2,65	2,58
0,75	3,5	1,17	2,15	1,99
0,76	4,7	1,8	2,58	2,55
0,77	5,6	1,5	3,7	3,75
0,77	4,7	1,65	2,73	2,70
0,78	7,1	1,69	4,82	5,06
0,78	5,1	1,53	3,3	3,22
0,8	4,1	1,8	2,15	1,94
0,81	4,6	1,7	2,69	2,53
0,82	5,2	1,77	3,13	3,06
0,82	5,0	1,13	3,49	3,50
0,83	6,0	1,62	3,96	4,00
0,85	4,8	1,38	3,07	3,03
0,89	6,1	1,6	4,08	4,10
0,9	4,1	1,49	2,32	2,20
0,91	4,7	1,45	2,96	2,84
0,93	4,5	1,17	2,91	2,91
0,93	5,1	2,11	2,83	2,57
0,94	4,6	1,64	2,71	2,53
0,95	4,2	1,19	2,72	2,58
0,96	5,5	1,53	3,67	3,53
0,99	5,0	1,33	3,31	3,22

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 8: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 1,0-1,49 mmol/L*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
1,0	4,8	1,43	2,98	2,92
1,01	5,2	1,18	3,52	3,56
1,02	3,3	1,08	1,74	1,76
1,03	4,4	1,09	2,92	2,84
1,05	6,5	2,41	3,57	3,61
1,06	3,7	0,96	2,33	2,26
1,06	7,4	1,76	4,93	5,16
1,06	4,5	1,31	2,81	2,71
1,1	5,0	1,49	3,1	3,01
1,12	4,4	1,72	2,45	2,17
1,13	3,6	1,23	2,06	1,86
1,15	6,2	1,96	3,81	3,72
1,17	7,1	1,52	4,96	5,05
1,17	6,0	1,74	3,82	3,73
1,18	4,9	1,27	3,23	3,09
1,19	4,6	1,52	2,81	2,54
1,19	5,3	1,43	3,43	3,33
1,19	4,3	1,33	2,6	2,43
1,2	4,9	0,99	3,43	3,36
1,2	4,9	1,09	3,26	3,26
1,21	4,7	1,31	3,03	2,84
1,22	4,8	1,37	3,14	2,88
1,25	2,7	0,67	1,76	1,46
1,26	4,7	1,08	3,18	3,05
1,27	6,2	1,43	4,36	4,19
1,32	4,8	1,84	2,64	2,36
1,32	6,4	1,87	3,93	3,93
1,34	4,0	1,18	2,53	2,21
1,36	3,7	1,14	2,17	1,94
1,36	4,0	1,23	2,37	2,15
1,38	5,3	1,72	3,16	2,95
1,39	6,9	1,44	4,74	4,83
1,4	5,5	0,98	3,8	3,88
1,41	4,7	1,31	2,95	2,75
1,43	5,7	1,16	3,9	3,89
1,45	8,2	1,36	5,88	6,18
1,46	6,5	1,54	4,33	4,30

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 9: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 1,5-1,99 mmol/L*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
1,5	4,9	1,4	3,03	2,82
1,52	4,0	1,33	2,32	1,98
1,53	5,9	2,31	3,24	2,89
1,54	5,5	1,15	3,8	3,65
1,56	5,2	1,08	3,49	3,41
1,6	8,1	1,57	5,64	5,80
1,6	5,5	1,48	3,56	3,29
1,61	7,1	1,26	4,88	5,11
1,61	5,1	1,4	3,24	2,97
1,61	4,4	1,11	2,91	2,56
1,62	6,4	1,53	4,17	4,13
1,62	6,9	1,32	4,83	4,84
1,63	5,4	0,91	3,86	3,75
1,64	5,8	1,58	3,68	3,47
1,66	5,7	1,28	3,8	3,67
1,71	6,0	1,33	3,98	3,89
1,71	5,0	1,74	2,85	2,48
1,73	6,7	1,35	4,73	4,56
1,74	5,0	1,37	3,13	2,84
1,75	6,2	1,69	3,87	3,71
1,79	6,0	1,77	3,55	3,42
1,81	4,0	0,96	2,71	2,22
1,82	6,1	1,05	4,29	4,22
1,85	7,3	1,22	5,19	5,24
1,86	4,3	0,89	2,93	2,56
1,91	7,6	1,4	5,34	5,33
1,92	5,2	1,16	3,52	3,17
1,92	6,3	1,03	4,51	4,40
1,94	4,6	1,09	2,94	2,63
1,96	7,7	1,6	5,16	5,21
1,97	6,1	1,35	4,16	3,85
1,97	4,1	0,89	2,6	2,31
1,98	5,7	1,27	3,8	3,53
1,98	11,7	2,16	8,32	8,64
1,99	5,7	1,58	3,51	3,22

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 10: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 2,0-2,99 mmol/L*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
2,0	5,2	1,27	3,43	3,02
2,0	4,7	1,47	2,82	2,32
2,02	7,2	2,06	4,47	4,22
2,09	4,8	1,76	2,67	2,09
2,13	5,1	1,68	3,04	2,45
2,16	4,7	1,34	2,78	2,38
2,24	5,1	1,4	3,11	2,68
2,27	7,1	1,61	4,68	4,46
2,3	7,2	2,03	4,37	4,12
2,3	6,9	1,42	4,65	4,43
2,31	5,7	1,22	3,76	3,43
2,31	6,6	1,69	4,2	3,86
2,31	7,4	1,33	5,22	5,02
2,32	8,1	1,23	5,74	5,82
2,4	6,3	1,41	4,02	3,80
2,49	6,6	1,61	4,15	3,86
2,52	5,1	1,16	3,34	2,79
2,52	7,6	1,45	5,01	5,00
2,64	6,4	1,52	4,05	3,68
2,84	3,4	0,84	2,06	1,27
2,9	5,7	0,93	3,81	3,45
2,95	5,8	1,21	3,7	3,25
2,97	5,7	1,0	3,83	3,35
2,97	4,3	0,95	2,71	2,00

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 11: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 3,0-3,99 mmol/L*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
3,03	5,8	1,08	3,76	3,34
3,03	5,9	1,0	4,01	3,52
3,03	4,3	1,08	2,72	1,84
3,04	5,4	1,11	3,38	2,91
3,04	6,3	1,13	4,26	3,79
3,06	8,8	1,3	5,95	6,11
3,15	5,9	1,11	4,03	3,36
3,16	5,7	1,11	3,73	3,15
3,17	5,6	1,1	3,78	3,06
3,18	7,1	1,5	4,49	4,15
3,2	6,8	1,11	4,62	4,24
3,21	4,6	0,84	3,04	2,30
3,22	5,6	0,93	3,74	3,21
3,25	6,5	0,98	4,48	4,04
3,25	4,0	0,99	2,4	1,53
3,3	6,9	1,11	4,57	4,29
3,31	5,4	1,04	3,33	2,86
3,34	4,9	1,2	3,0	2,18
3,39	5,4	0,91	3,81	2,95
3,44	5,4	1,13	3,46	2,71
3,51	6,7	1,66	4,11	3,44
3,54	5,2	1,14	3,34	2,45
3,62	4,9	0,87	2,99	2,38
3,68	6,1	1,1	4,05	3,33
3,69	4,6	0,86	3,0	2,06
3,73	7,6	1,28	4,9	4,62
3,78	4,9	1,06	2,92	2,12
3,78	7,6	1,47	4,95	4,41
3,81	7,9	1,25	5,32	4,92
3,81	7,6	1,17	5,01	4,70
3,87	8,0	1,19	5,33	5,05

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 12: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 4,0-4,99 mmol/L*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
4,01	6,2	1,02	4,15	3,36
4,01	6,1	1,51	3,59	2,77
4,08	6,7	1,18	4,45	3,67
4,08	4,5	0,9	2,81	1,75
4,12	5,8	1,01	3,85	2,92
4,23	4,7	1,04	2,74	1,74
4,26	4,5	1,04	2,79	1,52
4,27	7,3	1,53	4,61	3,83
4,28	7,5	1,32	5,11	4,23
4,3	6,5	1,27	4,2	3,28
4,44	6,0	0,99	4,01	2,99
4,46	6,0	1,62	3,4	2,35
4,47	5,1	1,02	3,23	2,05
4,49	8,4	1,19	5,79	5,17
4,59	6,2	1,16	3,88	2,95
4,68	4,2	0,66	2,59	1,41
4,76	7,5	1,27	4,76	4,07
4,78	5,6	1,11	3,53	2,32
4,79	7,8	1,27	5,12	4,35
4,82	4,9	0,75	2,99	1,96
4,91	5,6	0,88	3,55	2,49
4,95	6,7	1,29	4,31	3,16
4,97	8,8	1,43	5,9	5,11

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

Tabulka 13: *Pacienti s koncentrací triglyceridů 5,0 mmol/L a více*

TG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	HDL-CH (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
5,0	6,1	1,07	3,9	2,76
5,0	6,1	1,3	3,69	2,53
5,09	6,7	1,2	4,31	3,19
5,28	6,2	1,07	3,78	2,73
5,32	6,4	1,05	3,84	2,93
5,48	6,8	1,09	4,25	3,22
5,55	4,8	1,28	2,84	1,00
5,65	6,6	1,16	4,4	2,87
5,73	5,5	1,04	3,36	1,86
5,87	7,0	1,14	4,34	3,19
5,91	5,6	1,02	3,59	1,89
5,93	5,1	0,87	3,3	1,53
6,3	7,7	1,11	4,89	3,73
6,53	7,4	1,3	4,69	3,13
6,57	5,4	0,88	3,26	1,53
6,79	6,8	1,43	3,91	2,28
6,91	4,0	0,62	2,3	0,24
11,03	6,9	1,04	3,36	0,85

Zdroj: laboratoř Synlab Plzeň

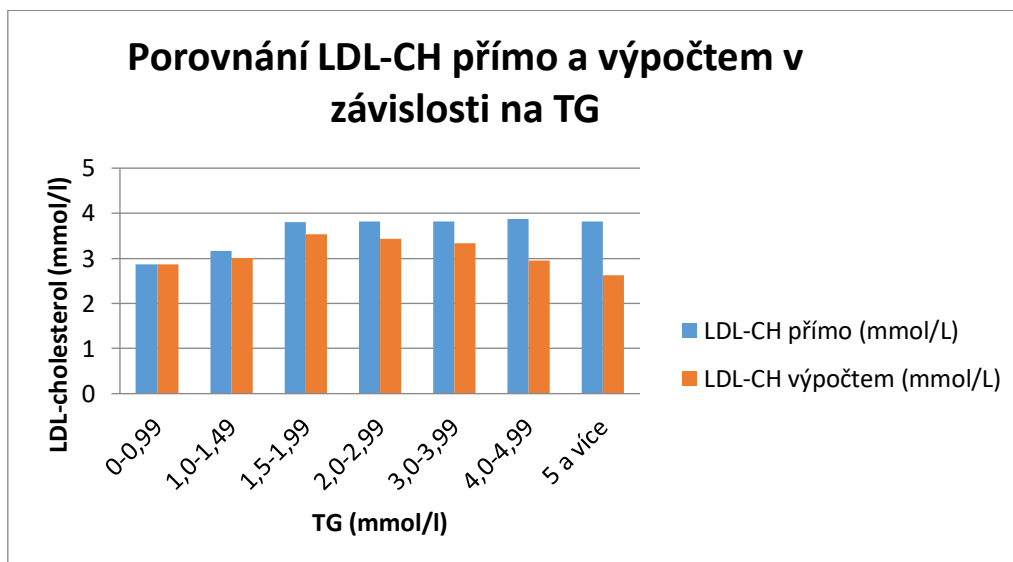
V tabulce číslo 14 jsou zapsány mediány koncentrací LDL-cholesterolu. Mediány byly spočteny pro přímé i nepřímé stanovení a pro každou skupinu triglyceridů samostatně. Pro soubor jako celek je medián i průměr již znázorněn v grafu číslo 1.

Tabulka 14: Medián koncentrací LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou

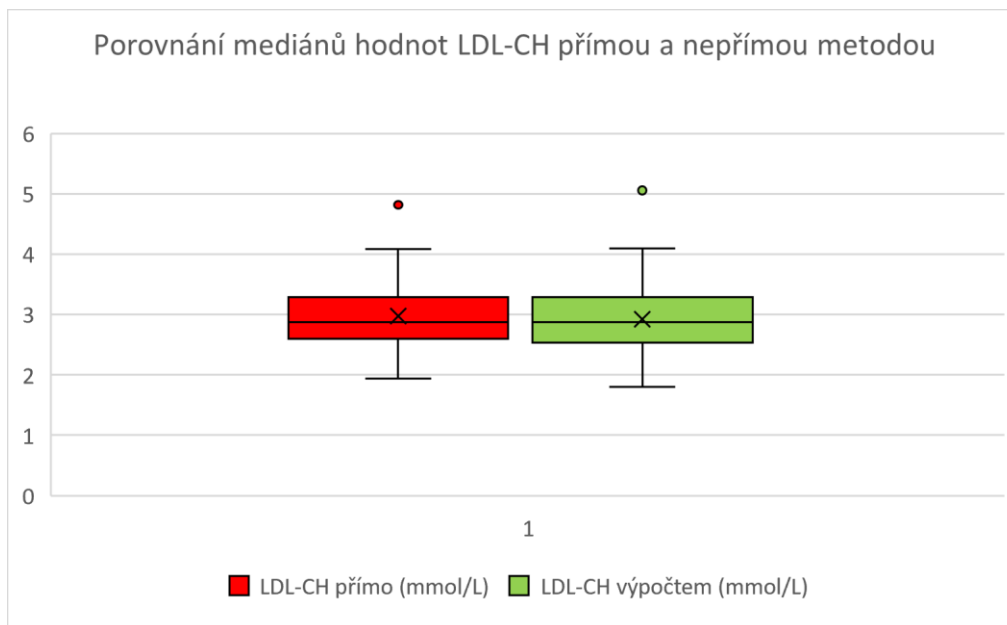
TG (mmol/L)	LDL-CH přímo (mmol/L)	LDL-CH výpočtem (mmol/L)
0-0,99	2,87	2,87
1,0-1,49	3,16	3,01
1,5-1,99	3,8	3,53
2,0-2,99	3,82	3,44
3,0-3,99	3,81	3,33
4,0-4,99	3,88	2,95
5 a více	3,81	2,63

Pro přesnější znázornění jsem vybrala graf číslo 4, kde je vidět rozdíl mezi přímou a nepřímou metodou. Dále zde můžeme pozorovat, jak se rozdíl mezi hodnotami zvyšuje zároveň s rostoucí koncentrací triglyceridů.

Graf 4: Porovnání hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou

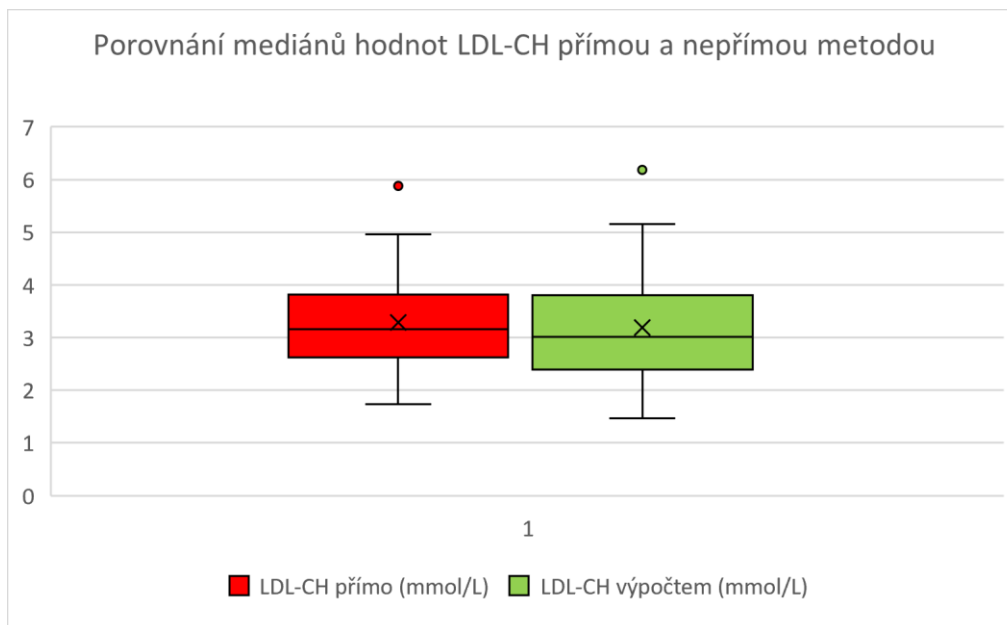


Graf 5: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 0,0-0,99 mmol/L



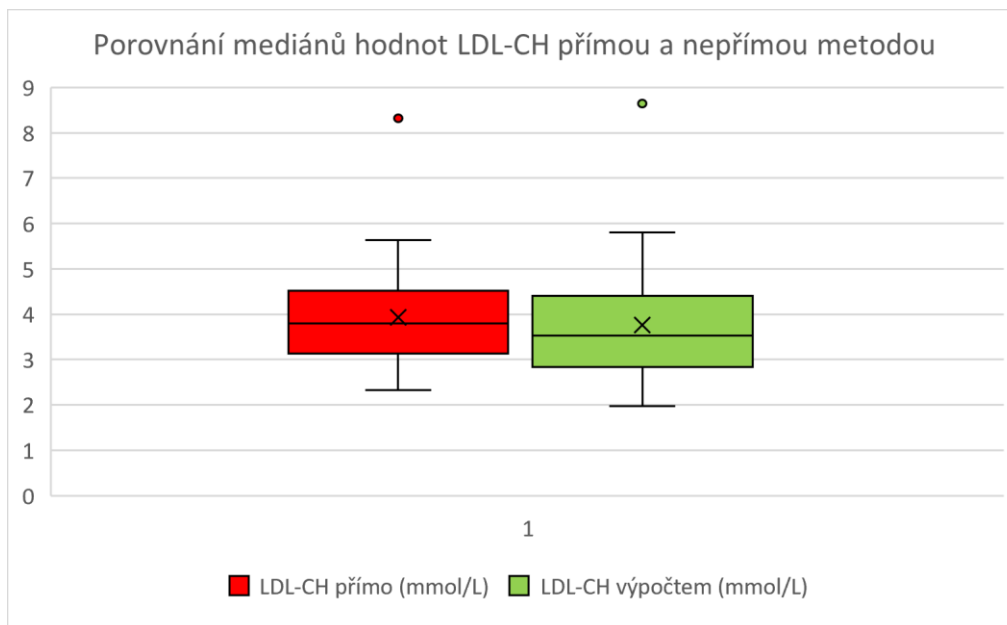
V krabicovém grafu číslo 5 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 2,87 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 1,94 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 4,82 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH také 2,87 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,80 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 5,06 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $2,98 \pm 0,62$ mmol/L a u nepřímé metody $2,93 \pm 0,69$ mmol/L.

Graf 6: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 1,0-1,49 mmol/L



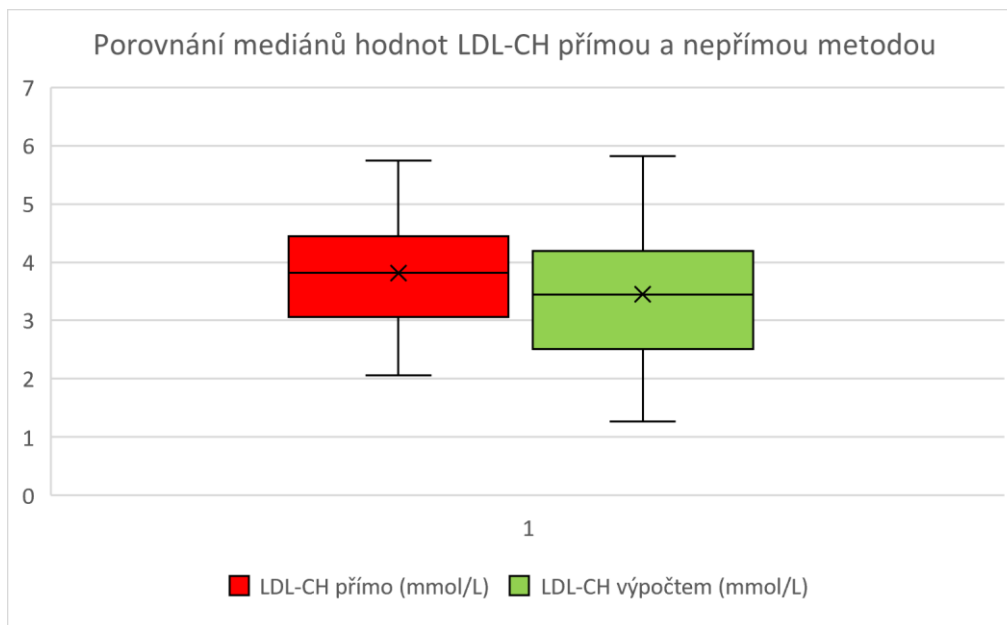
V krabicovém grafu číslo 6 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,16 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 1,74 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 5,88 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH 3,01 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,46 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 6,18 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,29 \pm 0,92$ mmol/L a u nepřímé metody $3,19 \pm 1,03$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 5 %.

Graf 7: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 1,5-1,99 mmol/L



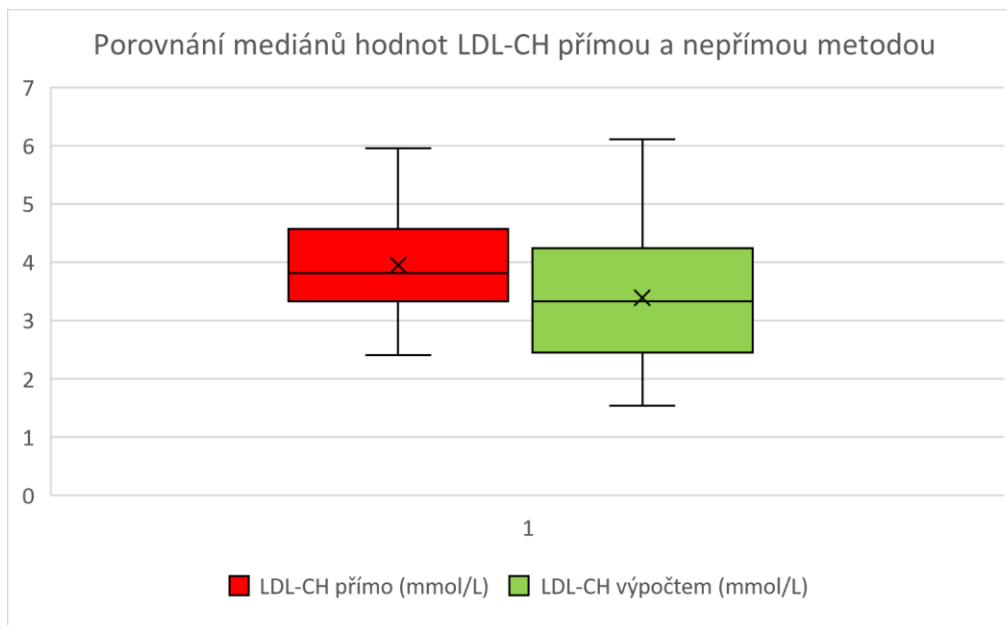
V krabicovém grafu číslo 7 jsem porovнала mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,8 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 2,32 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 5,64 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH 3,53 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,98 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 5,84 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,93 \pm 1,13$ mmol/L a u nepřímé metody $3,77 \pm 1,29$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 7 %.

Graf 8: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 2,0-2,99 mmol/L



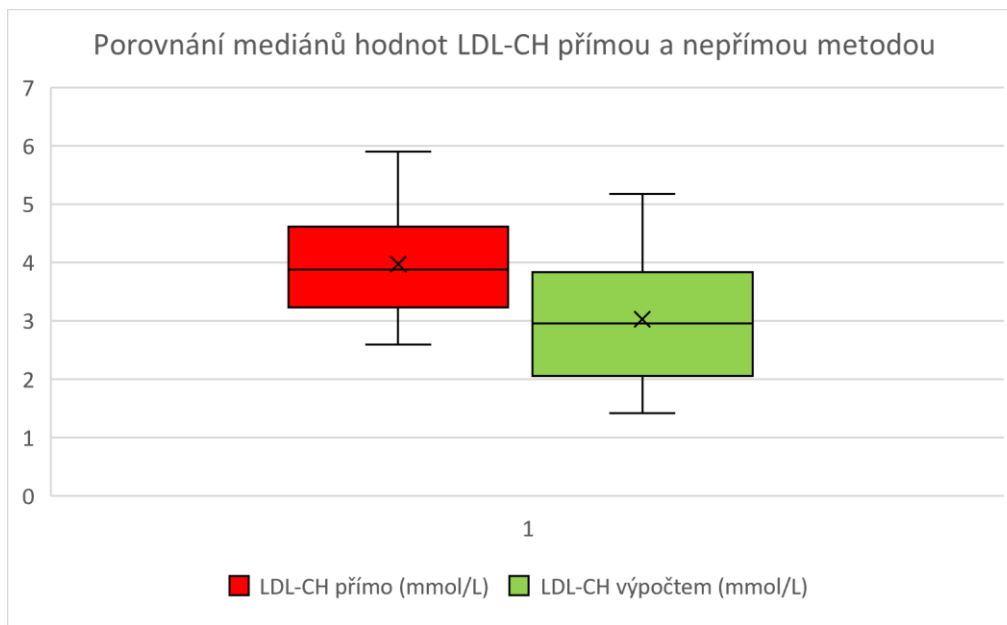
V krabicovém grafu číslo 8 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,82 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 2,06 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 5,74 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH 3,44 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,27 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 5,82 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,82 \pm 0,9$ mmol/L a u nepřímé metody $3,45 \pm 1,09$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 10 %.

Graf 9: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 3,0-3,99 mmol/L



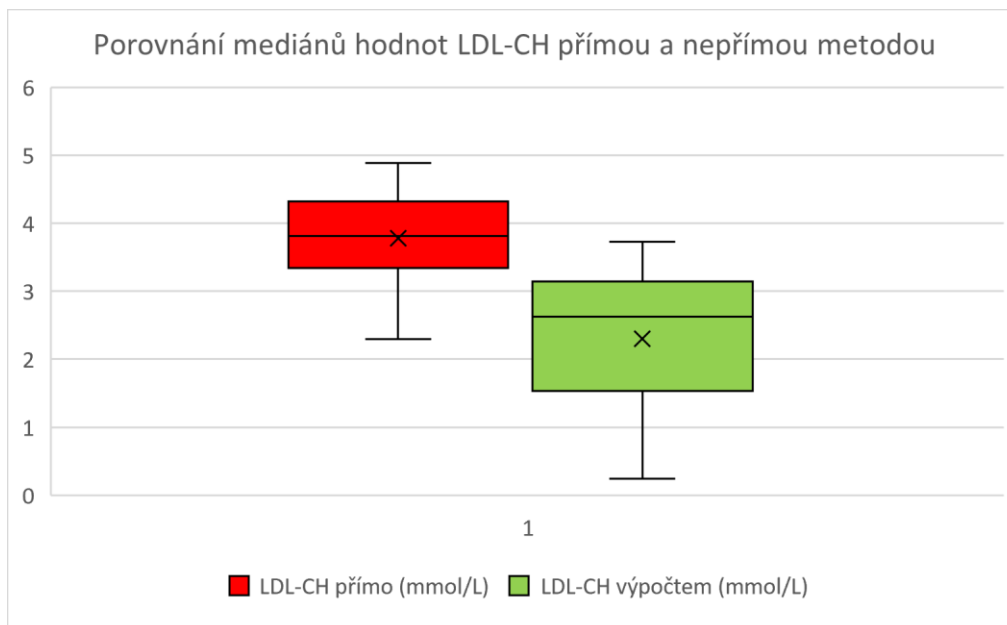
V krabicovém grafu číslo 9 jsem porovnála mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,81 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 2,4 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 5,95 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH 3,33 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,53 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 6,11 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,95 \pm 0,86$ mmol/L a u nepřímé metody $3,39 \pm 1,07$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 13 %.

Graf 10: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 4,0-4,99 mmol/L



V krabicovém grafu číslo 10 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,88 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 2,59 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 5,9 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH také 2,95 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 1,41 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 5,17 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,97 \pm 0,95$ mmol/L a u nepřímé metody $3,02 \pm 1,09$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 24 %.

Graf 11: Porovnání mediánů hodnot LDL-CH přímou a nepřímou metodou pro koncentrace TG 5,0 mmol/L a více



V krabicovém grafu číslo 11 jsem porovnávala mediány hodnot LDL-CH pro přímou a nepřímou metodu. V tomto grafu lze vidět, že medián pro přímou metodu je 3,81 mmol/L, nejmenší naměřená hodnota LDL-CH je 2,3 mmol/L a největší naměřená koncentrace LDL-CH je 4,89 mmol/L. Pro nepřímou metodu je medián LDL-CH 2,63 mmol/L, nejmenší vypočtená koncentrace LDL-CH je 0,24 mmol/L a největší vypočtená koncentrace je 3,73 mmol/L. Křížkem je označený průměr, který je u přímé metody $3,78 \pm 0,65$ mmol/L a u nepřímé metody $2,3 \pm 0,97$ mmol/L. Rozdíl mezi mediány LDL-cholesterolu stanovené přímou metodou a nepřímou metodou je 31 %.

DISKUZE

V teoretické části jsme se nejdříve zabývali charakteristikou a popisem aterosklerózy. Dále jsme determinovali hlavní rizikové faktory, které jsme rozdělili na ovlivnitelné a neovlivnitelné. Mezi ovlivnitelné faktory patří kouření, dyslipidemie, obezita, diabetes mellitus, arteriální hypertenze a nedostatečná fyzická aktivita. Jako laboratorní ukazatele na toto onemocnění jsme popsali homocystein, C-reaktivní protein a fibrinogen. Hlavní neovlivnitelné faktory jsou pohlaví, věk a genetické faktory. V poslední kapitole teoretické části jsme se zaměřili na LDL princip a na stanovení LDL-cholesterolu, které je pak důležité pro praktickou část. Zde jsme popsali přímé i nepřímé stanovení LDL cholesterolu. Veškerá literatura, kterou jsme použili, se shoduje s dnešními poznatky a pro přesnější doplnění všech údajů, jsme použili i zahraniční zdroje.

První naše výzkumná otázka byla, zda bude mezi přímým stanovením LDL-cholesterolu a nepřímým stanovením, které bylo zprostředkováno na základě Friedewaldovy rovnice, nějaký rozdíl, popřípadě jak bude tento rozdíl velký. Již když jsme mezi sebou porovnávali výsledky obou způsobů stanovení u celé skupiny pacientů, zjistili jsme patrný rozdíl. Tento rozdíl znázorňuje graf číslo 1. Průměrná koncentrace LDL-cholesterolu naměřená přímo byla $3,65 \pm 0,96$ mmol/L a průměrná koncentrace pro LDL-cholesterol, která byla vypočtena byla $3,24 \pm 1,08$ mmol/L.

Druhou výzkumnou otázkou bylo, jaké faktory by mohly tento rozdíl způsobit. Abychom našli odpověď na tuto otázku, vytvořili jsme tabulku číslo 6. V této tabulce jsou znázorněny korelace mezi jednotlivými parametry, které jsme při měření zjišťovali. Tyto parametry byly věk, pohlaví, triglyceridy, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol naměřený přímou metodou a LDL-cholesterol vypočtený pomocí Friedewaldova vztahu. Když jsme si udělali korelaci mezi Δ LDL, což je rozdíl hodnot LDL-cholesterolu přímou a nepřímou metodou, a již zmíněnými parametry, tak se ukázalo, že nejvíce tento rozdíl hodnot koreluje s hladinou triglyceridů. Pearsonův korelační koeficient byl zde 0,91. Na základě tohoto zjištění jsme si rozdělili soubor pacientů do jednotlivých skupin podle hodnot triglyceridů. K tabulkám číslo 7-13 se pak vztahují krabicové grafy číslo 5-11.

Tyto grafy jsme vybrali proto, že zde můžeme lépe porovnat mediány i průměry mezi přímým a nepřímým stanovením LDL-cholesterolu. Grafy nám ukázaly, že při hodnotách triglyceridů od 0,0 do 0,99 mmol/L můžeme LDL-cholesterol stanovit jak přímou,

tak i nepřímou metodou. Ovšem již od hodnot triglyceridů 2,00 mmol/L se nám výsledky od sebe začaly vzdalovat. Toto zjištění pro nás může být překvapivé, neboť Friedewaldova rovnice je omezena hodnotami triglyceridů do 4,5 mmol/L. Je zřejmé, že u pacientů, kteří mají vyšší koncentraci triglyceridů nad 4,5 mmol/L, tak bychom u nich měli stanovit LDL-cholesterol pouze přímou metodou, ale pro náš výzkum jsme sem pro srovnání zařadili i výpočet LDL-cholesterolu, i když nebylo dodrženo právě ono omezení triglyceridy. Graf číslo 11 nám ukazuje, proč je důležité dodržet hranici triglyceridů do 4,5 mmol/L. Zde se průměrné hodnoty LDL-cholesterolu liší o 1,48 mmol/L a medián o 1,18 mmol/L. Kromě průměru a mediánu se liší i nejmenší hodnota v této skupině. Pro LDL-cholesterol změřený byla nejnižší koncentrace 2,3 mmol/L a pro LDL-cholesterol vypočtený byla nejnižší koncentrace ve skupině 0,24 mmol/L.

Pro hodnoty triglyceridů od 1,0 do 1,49 byl rozdíl mediánů LDL-cholesterolu mezi těmito metodami 0,15 mmol/L, takže bychom mohli říci, že při těchto hodnotách triglyceridů můžeme použít na zjištění koncentrace LDL-cholesterolu obě metody. Již od hodnot triglyceridů od 1,5 do 1,99 mmol/L jsme si mohli všimnout nárůstu rozdílu mezi metodami a to na 0,27 mmol/L. U hodnot triglyceridů od 2,00 do 2,99 mmol/L byl rozdíl mediánů mezi metodami 0,38 mmol/L. V následující skupině triglyceridů od 3,00 do 3,99 mmol/L byl rozdíl mezi stanoveními 0,48 mmol/L a pro skupinu triglyceridů od 4,00 do 4,99 mmol/L byl rozdíl 0,93 mmol/L. Ovšem v této skupině již část pacientů spadá do omezení pro nepřímou metodu.

Vrablík (2019) v nových stanoviskách výboru České společnosti pro aterosklerózu k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií vyzdvihuje roli apoB, který by mohl nahradit stanovení LDL-cholesterolu, a to hlavně v případech, pokud bude velmi nízký. Dále by taky apoB mohl být použit jako primární parametr pro screening, diagnostiku a management nemocných s dyslipidemií.

Soška (2008) ve svém článku popisuje, jaká jsou omezení pro Friedewaldovu rovnici, které jsme sami potvrdili, a také popisuje vznik této rovnice, která pochází již z roku 1972 a tento výpočet se stále hojně využívá.

Bakalářská práce s názvem „Srovnání přímého měření LDL-cholesterolu a výpočtu LDL-cholesterolu v závislosti na hladině triglyceridů“, která byla napsána roku 2011,

se zabývá stejným problémem jako naše práce. (Rašková, 2011) Princip reakcí byl v obou pracech stejný, akorát použité přístroje se lišily. My jsme použili analyzátor Beckman Coulter AU480 a ve druhé práci byl použit analyzátor Modular Analytics Evo SWA. Dále se shodujeme v tom, že přímá metoda poskytuje vyšší výsledky než výpočet a že se procentuální rozdíl zvyšuje s rostoucí koncentrací triglyceridů. Ovšem klinicky významné rozdíly metod v naší práci nastaly až od hodnot triglyceridů 2,0 mmol/L, zatím co ve druhé práci byl již velký rozdíl při koncentraci triglyceridů v rozmezí 0,0-0,99 mmol/L, a to 12 %. V naší práci byl rozdíl mezi metodami v tomto rozmezí triglyceridů 0 %.

Článek s názvem „Comparison of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Concentrations by Direct Measurement and by Friedewald Calculation“ řeší stejný problémem jako naše práce. (Sung, 2019) V naší práci jsme vytvořili 7 skupin pacientů podle hodnot triglyceridů. V tomto článku jsou 4 skupiny pacientů podle hodnot triglyceridů, a to v rozmezí 0 - 0,55 mmol/L, 0,56 – 1,69 mmol/L, 1,7 – 3,39 mmol/L a 3,4 – 4,51 mmol/L. V první skupině, tj. koncentraci triglyceridů do 0,55 mmol/L, byl rozdíl mezi přímým a nepřímým stanovením LDL-cholesterolu 11 %. Pro hodnoty triglyceridů od 0,56 do 1,69 mmol/L byl rozdíl 12 %. Ve třetí skupině triglyceridů (hodnoty v rozmezí 1,7 – 3,39 mmol/L) byl rozdíl mezi stanoveními 15 % a pro poslední skupinu byl rozdíl 24 %. S naší prací se tento článek shoduje v tom, že s rostoucí koncentrací triglyceridů se rozdíl mezi stanoveními zvyšuje, a že medián koncentrací LDL-cholesterolu pro přímou metodu je vždy vyšší než medián koncentrací LDL-cholesterolu pro nepřímou.

ZÁVĚR

Prokázali jsme, že u jedinců s hladinou triglyceridů do 1 mmol/l nebyl zjištěn rozdíl mezi hodnotami LDL-cholesterolu měřeného přímo a vypočteného pomocí Friedewaldovy rovnice. U jedinců s hladinou triglyceridů v rozmezí 1,0-2,0 mmol/l byly zjištěny rozdíly do 10 %, které nepovažujeme za klinicky významné. I zde lze použít oba způsoby stanovení LDL-cholesterolu. Při hodnotách triglyceridů nad 2,0 mmol/l jsme zjistily, že rozdíly mezi oběma způsoby stanovení jsou již větší než 10 % a mohou být klinicky významné.

Nejsme schopni se jednoznačně vyjádřit k tomu, který způsob doporučit. Námětem na další výzkum by mohlo být stanovení LDL-cholesterolu referenční metodou a porovnání s oběma rutinně používanými způsoby.

Pro pacienty s hladinou triglyceridů nad 2,0 mmol/l doporučujeme při současné úrovni poznání doplnit výpočet non-HDL-cholesterolu a koncentraci apo B, které mohou sloužit jako náhradní ukazatele pro management léčby.

Bakalářská práce splnila dané cíle a odpověděla na výzkumné otázky. V praxi tato práce může sloužit jako materiál pro studenty, kteří by se chtěli dozvědět základní informace o ateroskleróze a stanovení LDL-cholesterolu.

SEZNAM LITERATURY

1. **BERNÁT, V.** Cardio.sk. *Ateroskleróza*. [Online] 2016. [Citace: 30. 07. 2019.] Dostupné z: <http://www.cardio.sk/ochorenia/srdce/infarktmyokardu/ateroskleroza>.
2. **BROULÍKOVÁ, A.** remedia.cz. *Diabetes mellitus a cévní komplikace*. [Online] 2018. [Citace: 07. 08. 2019.] Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2018/3-2018/Diabetes-mellitus-a-cevni-komplikace/e-2u8-2yO-2yQ.magarticle.aspx>.
3. **BUREŠ, J. a kol.** *Vnitřní lékařství*. 2. přeprac. a rozš. vydání Praha : Galén, 2014. ISBN 978-80-7492-145-2.
4. **CARR, S. et al.** Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. *Pathology*. [Online]. 2019, 51 (2), str. 148-154. [Citace: 30. 10. 2019.]. DOI: 10.1016/j.pathol.2018.11.006.
5. **ČEŠKA, R.** *Familiární hypercholesterolemie*. Praha : Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-843-6.
6. **ČEŠKA, R.** *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. Vyd. 4., Praha : Triton, 2012. str. 408. Sv. 4. ISBN 978-80-7387-599-2.
7. **ČEŠKA, R.** tlukotsrdce.cz. *Co je to ateroskleróza?* [Online] 2010. [Citace: 21. 01. 2020.] Dostupné z: <http://www.tlukotsrdce.cz/clanek/131/co-je-to-ateroskleroza/>.
8. **ČEŠKA, R.** tribune.cz. *Co přinesla studie FOURIER? Důkazy pro inhibitory PCSK9, nebo „jen“ potvrdila LDL hypotézu?* [Online] 2017. [Citace: 24. 02. 2020.] Dostupné z: <https://www.tribune.cz/clanek/42573-co-prinesla-studie-fourier-dukazy-pro-inhibitory-pcsk-nebo-jen-potvrdila-ldl-hypotezu>.
9. **DUFEK, M.** *Interní medicína: Ateroskleróza v neurologii*. Vyd. 3., Olomouc : SOLEN Medical Education, 2003, sv 5. ISSN 1803-5256.
10. **GORDON, S.** High density lipoprotein proteome is associated with cardiovascular risk factors and atherosclerosis burden as evaluated by coronary CT angiography. *Atherosclerosis*. [Online]. 2018, str 278. [Citace: 05. 10. 2019.]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.09.032

11. **KAUTZNER, J.** ikem.cz. *Arteriální hypertenze*. [Online] [Citace: 07. 09. 2019.] Dostupné z: <https://www.ikem.cz/cs/arterialni-hypertenze/a-435/>.
12. **NAGARAJAN, U.** Genital Chlamydia infection in hyperlipidemic mouse models exacerbates atherosclerosis. *Atherosclerosis*. [Online]. 2019, str. 290. [Citace: 01. 10. 2019.]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.09.021.
13. **PERUŠICOVÁ, J. a kol.** diab.cz. *Doporučený postup péče o nemocné s prediabetem*. [Online] 2012. [Citace: 22. 01. 2020.] Dostupné z: http://www.diab.cz/dokumenty/Prediabetes_2012.pdf.
14. **PREDIMAN, S.** Inflammation, infection and atherosclerosis. *Trends in Cardiovascular Medicine*. [Online]. 2019, 29(8), str. 468-472. [Citace: 08. 09. 2019.] DOI: 10.1016/j.tcm.2019.01.004.
15. **RACEK, J.** *Klinická biochemie*. 2. přeprac. vyd. Praha : Galén, 2006. ISBN 80-7262-324-9.
16. **RACEK, J.** Oxidované LDL a ateroskleróza. *Labor Aktuell: Časopis pro klienty Roche Diagnostics*. 2010, číslo 3, str. 12-15.
17. **RAŠKOVÁ, V.** Srovnání přímého měření LDL-cholesterolu a výpočtu LDL-cholesterolu v závislosti na hladině triglyceridů [online]. Brno, 2011 [cit. 2020-03-27]. Dostupné z: <https://theses.cz/id/u1c2aj/>. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce prof. MUDr. Vladimír Soška, CSc..
18. **SCHULTE, D.** Small dense LDL cholesterol in human subjects with different chronic inflammatory diseases. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. [Online]. 2018, 28(11), [Citace: 17. 09. 2019.] DOI: 10.1016/j.numecd.2018.06.022.
19. **SOŠKA, V. a kol.** cskb.cz. *Stanovisko výboru České společnosti pro aterosklerózu k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií z roku 2016*. [Online] 2017. [Citace: 01. 09. 2019.] Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/athero-review/2017-3/stanovisko-vyboru-ceske-spolecnosti-pro-aterosklerozu-k-doporučením-esc-eas-pro-diagnostiku-a-lecibu-dyslipidemií-z-roku-2016-62157>

20. **SOŠKA, V. a kol.** Společné doporučení České společnosti klinické biochemie ČLS JEP a České společnosti pro aterosklerózu ČLS JEP ke sjednocení hodnoticích mezí krevních. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2010, ISSN 1210-7921.
21. **SOŠKA, V.** Stanovení LDL-cholesterolu - stále nevyřešený problém: vypočít, nebo změřit? *Vnitřní Lékařství*. 2008, 54(10), ISSN 943-944.
22. **SUNG, K.C. et al.** Comparison of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Concentrations by Direct Measurement and by Friedewald Calculation. *The American journal of cardiology*. [Online]. 2019, 125(6), [Citace: 27. 03. 2020.] DOI: 10.1016/j.amjcard.2019.12.036.
23. **ŠTERN, P.** *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. 2., upr. vyd. Praha : Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-1979-8.
24. **VAVERKOVÁ, H., SOŠKA, V., ROSOLOVÁ, H., ČEŠKA, R.** cskb.cz. *Doporučení pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií v dospělosti, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu*. [Online] 2007. [Citace: 01. 08. 2019.] Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/doporuzeni/Dop_atero-07.pdf.
25. **VRABLÍK, M.** kardiologickarevue.cz . *Evropský konsenzus k otázkám aterogenní dyslipidemie a kombinální léčbě statinem a fibrátem*. [Online] 2016. [Citace: 05. 08. 2019.] Dostupné z: <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2016-1/evropsky-konsenzus-k-otazkam-aterogenni-dyslipidemie-a-kombinacni-lecbe-statinem-a-fibratem-57614>.
26. **VRABLÍK, M.** tlukotsrdce.cz. *Ateroskleróza: Co je nového?* [Online] 2014. [Citace: 30. 07. 2019.] Dostupné z: <http://www.tlukotsrdce.cz/clanek/1013/ateroskleroz-co-je-noveho/>.
27. **VRABLÍK, M. a kol.** Stanovisko výboru České společnosti pro aterosklerózu k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií z roku 2019. *Athero Review*. 2019, 4(3), ISSN: 2464-6563.
28. **VRABLÍK, M., KRALÍKOVÁ E., ČEŠKA R.** prolekare.cz. *Vliv kouření na metabolismus lipidů*. [Online] 2017. [Citace: 22. 01. 2020.] Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/tema/kardiovaskularni-rizika/detail/vliv-koureni-na-metabolismus-lipidu-7741>.

29. **VRABLÍK, M., JANOTOVÁ, M., MOTYKOVÝ, E. a kol.** *Medicína pro praxi: Endoteliální dysfunkce – první stadium aterosklerózy.* Vyd. 3., Oloumouc : SOLEN Medical Education, 2011, sv. 8. ISSN 1803-5310.

30. **WIDIMSKÝ J.jr, FILIPOVSKÝ J., CERAL J. a kol.** Doporučení pro diagnostiku a léčbu arteriální hypertenze ČSH 2017. *Hypertenze a kardiovaskulární prevence.* Praha: TARGET, 2018, 7. ročník, ISSN: 1805-4129.

31. **ZIMA, T.** *Laboratorní diagnostika.* 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha : Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2.

32. **ŽÁK, A., MACÁŠEK, J.** *Ateroskleróza. Nové pohledy.* Praha : Grada, 2011. str. 183. ISBN 978-80-24730523.