

Lipidy

Do skupiny *lipidů* patří látky poměrně různorodého složení (viz schéma *Přehled lipidů* na konci kapitoly), většina z nich jsou estery mastných kyselin s různými alkoholy. Společnou vlastností lipidů je jejich relativní nerozpustnost ve vodě a dobrá rozpustnost v tzv. *tukových rozpouštědlech*, tj. v nepolárních rozpouštědlech typu éteru, benzenu, chloroformu.

Z lipidů uvedených v tabulce mají z klinicko-biochemického hlediska význam především *mastné kyseliny*, *triacylglyceroly*, *triglyceridy*, *cholesterol*, *fosfolipidy (fosfatidy)* a *singolipidy*, z hlediska rutinní klinicko-biochemické praxe pak triacylglyceroly a cholesterol ve všech formách.

Tělesné lipidy pocházejí z

- tuků v potravě, které byly stráveny, vstřebány ve střevě a chemicky pozměněny
- vlastní biosyntézy ze sacharidů a z proteinů.

V **krvi** se lipidy nacházejí ve formě *lipoproteinů*, tj. kombinovány s proteiny. Takto se stávají rozpustnými ve vodě a mohou být transportovány ve vodném prostředí (plazmě).

Hlavní „dopravní“ prostředky lipidů v plazmě jsou pro:

Volné mastné kyseliny:	albumin
Triacylglyceroly exogenní (z potravy):	chylomikrony
Triacylglyceroly endogenní (vlastní syntéza):	VLDL
Cholesterol:	chylomikrony, VLDL, LDL, HDL

Význam lipidů je široký, jak lze usoudit i z uvedených příkladů:

- triacylglyceroly (TG, TAG) představují hlavní *zásobu energie* a jsou významným *zdrojem energie*
- fosfolipidy a cholesterol se vyskytují ve značném množství v membránách buněk a buněčných organel (*strukturní lipidy*), cholesterol je navíc *prekursorem steroidních hormonů (viz)*
- lipidy mají *izolační vlastnosti* (ochrana orgánů před mechanickým šokem, tepelná izolace, usnadňují tok elektronů podél nervových drah)

Všechny plazmatické lipidy se vážou na bílkoviny (apoproteiny) a takto vzniklé „makromolekuly“ se nazývají *lipoproteiny*. Vazbou na bílkoviny se stanou lipidy rozpustnými ve vodném prostředí a mohou být transportovány v extracelulární tekutině. Apoproteiny dále hrají důležitou roli v metabolismu lipoproteinů (působí jako aktivátory enzymů) a také se vážou na buněčné receptory a umožňují vstup lipidů do cílových buněk. Rozeznává se několik typů apoproteinů, které se označují velkými písmeny: **A, B, C, D, E, F, G**, z nichž v rutinní biochemické laboratorní praxi se stanovují zejména apoproteiny typu **A** a **B**.

Plazmatické lipoproteiny se liší svou hustotou, relativním obsahem jednotlivých lipidů, typem bílkoviny (apoproteinu) a některými dalšími vlastnostmi. Dělení lipoproteinů do jednotlivých tříd vychází obvykle z *rychlosti sedimentace při ultracentrifugaci*. Při elektroforetickém dělení se dosahuje vyššího počtu frakcí než při ultracentrifugaci, též názvosloví při tomto způsobu dělení je odlišné.

Třídy lipoproteinů na základě dělení metodou ultracentrifugace

- **CL** (ChyLomikrony, ChyLomikra)
- **VLDL** (Very Low Density Lipoproteins = lipoproteiny o velmi nízké hustotě)
- **LDL** (Low Density Lipoproteins = lipoproteiny o nízké hustotě)
- **IDL** (Intermediate Density Lipoproteins = lipoproteiny o střední hustotě)

▪ **HDL** (High Density Lipoproteins = lipoproteiny o vysoké hustotě)

Poznámka I: ultracentrifugací lze rozlišit ještě CL remnants (remnantní čili zbytková/é chylomikra/chylomikrony)

Poznámka II: mezi hustotou a velikostí molekuly je vztah nepřímo úměrný – čím vyšší hustota, tím menší molekula a naopak

Apo(lipo) protein	Výskyt	Místo syntézy	Molekulární hmotnost [D]	AK	CH	Funkce	Střední normální koncentrace v plazmě [mg/l]	
A	A-I	HDL, chylomikrony	Tenké střevo, játra	28 300	243	11	Aktivace lecitin cholesterol acyltransferázy (LCAT), transport lipidů, ligand pro HDL receptor, stabilizace prostacyklinů, strukturální bílkovina	1000 – 1600
	A-II	HDL	Tenké střevo, játra	17 000	77	1	Strukturální bílkovina, ligand pro HDL receptor, aktivace jaterní lipázy?	300 – 500
	A-IV	Chylomikrony, HDL, VLDL, frakce séra s volnými lipoproteiny	Tenké střevo	46 000	376	?	Aktivace LCAT, ligand pro HDL receptor, metabolismus triacylglycerolů	asi 150
B	B 100	LDL, VLDL	Játra	549 000	4536	2	Sekrece triacylglycerolů a cholesterolu z jater a tenkého střeva, absorpce lipidů, vazba na B/E receptor, aktivace lysolecitin acyltransferázy	500 - 900
	B 48	Chylomikrony	Tenké střevo	265 000	-	2	Střevo Vazba na B,E-receptor	
C	C-I	Chylomikrony, VLDL, HDL	Játra, nadledviny	6 500	57	19	Potlačení vazby vznikajících lipoproteinů na LDL receptor a na LRP, aktivace LCAT	<100
	C-II	Chylomikrony, VLDL, HDL	Játra	8 800	79	19	Aktivace LPL	30 – 80
	C-III_{0,1,2}	Chylomikrony, VLDL, HDL	Játra	8 900	99	11	Inhibice LPL aktivity, interference s lipoproteiny na jaterních receptorech	80 – 150
D	HDL ₃	Ledviny, pankreas, střevo, mozek, varlata, nadledviny	2 000	-	3	LCAT aktivátor	asi 100	
E	VLDL, chylomikra	Játra, periferní tkáně	36 500	299	19	Vazba na B/E a E receptory Odstranění cholesterolu s periferních buněk	30 – 50	
(a)	Lp(a)	Játra	270 000 - 700 000		8	?	<300	

Apo(lipo)proteiny

Vlastnosti lipoproteinů jsou převážně určeny jejich bílkovinnou částí – apo(lipo)proteiny. Tabulka na následující straně ukazuje některé základní vlastnosti apoproteinů. Rovněž apoproteiny vykazují, jako jiné bílkoviny, polymorfismus, což v některých případech má závažné dopady na metabolismus lipidů a zdravotní stav jedince.

Podrobný popis apolipoproteinů, jejich výskyt, místo syntézy, funkce a vlastnosti

Vysvětlivky: AK = aminokyseliny (počet), CH = chromosom (číslo)

Tři hlavní funkce apolipoproteinů

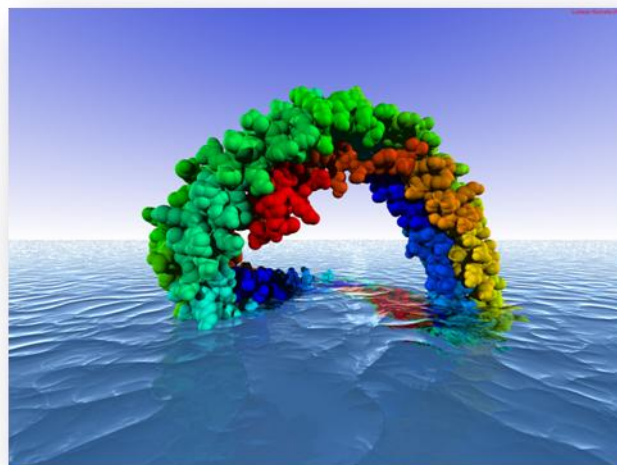
- Jsou to strukturální částice/elementy amfipatických lipoproteinů, s hydrofobní stranou v kontaktu s vodním prostředím plazmy, což umožňuje *transport ve vodě nerozpustných lipidů*.
- Slouží jako *ligandy* (ve smyslu *ligand = signální spouštěcí molekula vázající se na vazebné místo cílového proteinu*). Vážou se na specifické lipoproteinové receptory na povrchu prakticky všech somatických buněk. Vazba apoproteinu na lipoproteinový receptor je prvním krokem k využití lipidů buňkou.
- Některé apoproteiny (apo A-I, C-I a C-II) jsou *kofaktory lipolytických enzymů* (lecitin cholesterol acyltransferázy = LCAT, lipoproteinové lipázy = LPL) a zúčastňují se tak přímo lipoproteinového metabolismu.

Jednotlivé apoproteiny

(srovnej s tabulkou na předchozí straně)

A-I

Tvoří se v tenkém střevě a v játrech v přibližně stejných množstvích. Je to hlavní komponenta třídy HDL, tvoří přibližně 30% HDL částice. Hlavní fyziologickou funkcí je příjem/odnímání volného cholesterolu z buněk/buňkám a slouží také jako kofaktor v reakci LCAT. Tyto procesy jsou důležité pro transport cholesterolu zpět do jater, což je činnost známá jako *reverzní cholesterolový transport*.



Umělecké ztvárnění molekuly Apolipoproteinu AI (Apo AI ve vodě) <http://www.komsta.net/chemwalls/apolipo2-1280.jpg>

A-II

Tvoří se podobně jako A-I v tenkém střevě a v játrech. Je to druhý nejznámější apolipoprotein třídy HDL, jeho funkce není dosud známa.

A-IV

Apo A-IV se nalézá především ve vazbě s chylomikrony, ale také v malých HDL a ve frakci séra neobsahující lipoproteiny. Ve chvíli, kdy HDL absorbují produkty lipolýzy lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly, oddělí se apo A-IV od HDL a mohou se vrátit do lymfy. Apo A-IV se rovněž účastní reverzního cholesterolového transportu jako aktivátor LCAT.

Apo B

Apo B je hlavní komponentou LDL a IDL a je rovněž důležitou komponentou VLDL a chylomiker. Vyskytuje se ve dvou formách

- **apo B 100**, která se nachází ve VLDL a LDL, tvoří se v játrech; vazby s lipidovým jádrem částice jsou extrémně stabilní; zřejmě díky této silné vazbě k lipidovému jádru se apo B **nevyměňuje** během metabolismu mezi jednotlivými lipoproteiny
- **apo B 48**, která se nachází v chylomikrech a tvoří se v játrech jako N-terminální polovina apo B 100.

Apo B se zdá být nezbytný pro tvorbu lipoproteinů bohatých triacylglyceroly, současně je také ligandem B, E receptoru (LDL receptor). Existuje *genetický polymorfismus apo B*, vedoucí k různým afinitám k tomuto receptoru a tím následně k různým rychlostem katabolismu LDL v buňkách..

Apo C

Tvoří se převážně v játrech. Tato třída apolipoproteinů obsahuje tři malé peptidy značené C-I, C-II a C-III, které se téměř vždy vyskytují pospolu. Nacházejí se především v HDL. V přítomnosti lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly dojde k přenosu apo C do těchto částic a k jejich opětovnému uvolnění po hydrolýze triacylglycerolů. C-I aktivuje LCAT a inhibuje fosfolipázu A₂, C-II je hlavním kofaktorem lipoproteinové lipázy a C-III chrání tzv. zbytky (remnants) od předčasného odklizení játry a inhibuje aktivitu endoteliální lipoproteinové lipázy.

Apo E

Tvoří se převážně v játrech a je distribuován rovnoměrně mezi VLDL a HDL částice. Podobně jako u apo C dochází i u apo E k výměnám mezi těmito hustotními třídami. Působí jako ligand pro dva rozdílné receptory, a to pro *zbytkový (remnant) receptor* a pro *B, E receptor*. K receptoru B,E má významně vyšší afinitu než apo B. Existuje genetický polymorfismus, jsou známy 3 alely (*označené ε-2, ε-3 a ε-4*) jejichž produktem jsou tři proteiny lišící se v jedné aminokyselině a v afinitě k receptoru. Alela ε-2 provází hypetriglyceridémii a alela ε-4 hypercholesterolémii.

Apoprotein (a)

Glykoprotein s vysokým obsahem kyseliny neuraminové, rozpustný ve vodě. Molekulová hmotnost je variabilní a pohybuje se mezi 300 až 700 kD. Je syntetiován v játrech.

V populaci se vyskytuje více jak 30 izoform apo(a) lišících se velikostí. Podle jejich relativní elektroforetické pohyblivosti vzhledem k apo B, jsou nejčtenější typy označeny F (*fast, rychlý*), B (*stejně rychlé jako apo B*) a S1 až S4 (*slow, pomalý*).

Metodami molekulární biologie bylo zjištěno, že apo(a) vykazuje vysokou homologii s plasminogenem (serinová proteáza) i s faktorem XII, tkáňovým aktivátorem plasminogenu a protrombinem. Na rozdíl od plasminogenu nemůže však být apo(a) konvertován tkáňovým aktivátorem plazminogenu (tPA), urokinázou nebo streptokinázou na aktivní proteázu. Přesto existují důkazy, že *apo(a) proteázovou aktivitu vykazuje*, i když s různou substrátovou specifitou. Z uvedené podobnosti molekul se soudí, že apo(a) může být *spojkou mezi trombolýtickým a aterogenním systémem, mezi lipidovým metabolismem a koagulací*. Tuto hypotézu podporuje fakt, že protein apo(a) je vysoce aterogenní: koncentrace Lp(a) nad 300 mg/l zdvojnásobuje koronární riziko a zpětinásobuje ho v případě, že je rovněž zvýšena hladina LDL cholesterolu.

Metody stanovení apolipoproteinů

Pro prognostiku vývoje poruchy v metabolismu lipidů má význam především stanovení apolipoproteinu A-I a apolipoproteinu B (apo B 100). Tyto bílkoviny se stanovují imunochemicky, v rutinní praxi většinou (homogenní) zákalovou metodou v roztoku, tj. turbidimetricky (imunoturbidimetrie). Používají se specifické protilátky od různých výrobců (Dako, Orion, Immunotech). Metody lze automatizovat (automatické biochemické analyzátoři), případně lze používat specializované fotometry různých výrobců i běžné fotometry či nákladnější, ale přesnější, nefelometry.

Lipoproteiny

Mnoho materiálu v následujícím textu o lipoproteinech je převzato z publikace prof. Aufenanger Johannes, MD, Zawta Bernd, PhD: Lipoproteins, Fundamentals in Laboratory Medicine, Roche Diagnostics GmbH

Jednoduchá, leč vše vysvětlující rovnice má tvar: **apolipoprotein + lipid = lipoprotein**

Složení jednotlivých tříd lipoproteinů

	Chylomikra	VLDL	LDL	HDL
Lipoprotein/apolipoprotein	C, B, A	C, B (E, D, A)	B (C, E, D, A)	A (C, B, D, E)
Triacylglyceroly	0,86	0,53	0,06	0,04
Cholesterol	0,02	0,07	0,08	0,04
Cholesterol-ester	0,03	0,14	0,42	0,15
Fosfolipidy	0,07	0,18	0,22	0,30
Proteiny	0,02	0,08	0,22	0,47

Vysvětlivky: v tabulce je uvedeno procentové zastoupení jednotlivých lipidů a celkových proteinů; je uvedeno zastoupení apoproteinů (před závorkou je uvedena převažující složka); uváděné složení jednotlivých lipoproteinů se může poněkud lišit podle autorů

Další pohled na některé vlastnosti lipoproteinů

Lipoprotein	Flotace (δ) v [g/ml]	Obsah lipidů (L) [%]	Obsah proteinů (P) [%]	Poměr P/L
Chylomikra	0,95 g	98 – 99,5	9,5 – 2	1 : 100
VLDL	0,95 – 1,006	90 – 92	8 - 10	1 : 9
IDL	1,006 – 1,019	různý	různý	není konstantní
LDL	1,019 – 1,063	80	20	1 : 4
HDL	1,063 – 1,210	50	50	1 : 1
HDL1 (HDLc)	1,055 - 1,085			
HDL2	1,063 – 1,120			
HDL3	1,120 – 1,210			
Lp(a)	1,055 – 1,110	80	20	1 : 4

Flotace odkazuje na ultracentrifugaci v *solném gradientu*: částice se „vznášejí“ tj. „flotují“ v roztoku o uvedené hustotě, čili v podstatě vyjadřuje relativní hustotu konkrétní třídy částic. Tato hustota se pohybuje mezi hustotou lipidů (<99 g/ml) a hustotou bílkovin (>1,28 g/ml). Rozdíly v hustotě jsou způsobeny různým poměrem protein-lipid (P/L) v jednotlivých částicích. Čím větší obsah lipidů, tím lehčí částice.

Chylomikrony

Tvoří se v tenkém střevě v buňkách střevní mukózy, především jako reakce na lipidy přijaté potravou. Syntéza neprobíhá kontinuálně a závisí na množství neutrálních tuků, které mají být

absorbovány. Chylomikrony transportují *triacylglyceroly* přijaté potravou (exogenní). Na séru stojícím přes noc při 4 °C tvoří krémovou vrstvu.

VLDL

Tvoří se v játrech a transportují většinu *triacylglycerolů* tvořených (endogenní) lipogenesou.

IDL

U zdravých jedinců se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích. Tvoří se při metabolismu VLDL (jsou produktem metabolismu VLDL). Poměr P/L je nekonstantní.

LDL

Tvoří se v metabolismu VLDL (jsou produktem metabolismu VLDL). Přenášejí většinu *cholesterolu* nacházejícího se v krvi. LDL částice se liší ve velikosti, hustotě, složení a fyzikálně chemických vlastnostech.

Lze rozlišit až 15 různých frakcí, ale většinou se rozlišují

- *velké lehké* LDL (obsahují kolem 2750 molekul cholesterolu na jednu apo B molekulu),
- *malé husté* LDL (obsahují kolem 650 cholesterolových molekul na molekulu apo B) a
- *intermediární* LDL, s vlastnostmi mezi výše jmenovanými LDL.

Složení v LDL částicích se liší od osoby k osobě. U lidí s normálními hodnotami lipidů se nachází přibližně stejné množství velkých a malých LDL.

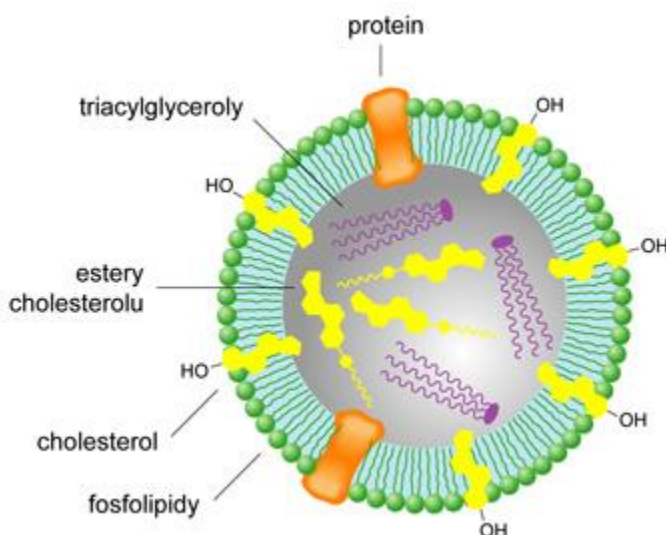
HDL

Tvoří se v prekurzorové formě (prvotní *diskoidní* forma) v tenkém střevě a v játrech a je přeměňován na konečnou (sférickou) formu v plazmě. Podle složení, morfologie a funkčních vlastností se rozlišují tři subfrakce: HDL₁, zvaná též HDL_C, dále HDL₂ a HDL₃.

Lp(a) = Lipoprotein (a) (s lipoproteinem asociovaný antigen)

Obdobné složení jakou mají částice LDL, k apo B obsahuje navíc apoprotein(a).

Schématické znázornění lipoproteinů



Užitečné adresy:

<http://erkki.kennesaw.edu/schem220/lipoprotein.gif>
<http://search.live.com/images/results.aspx?q=lipoprotein&FORM=BIRE#>
[Vybrané obrázky](#)

Metabolismus lipoproteinů

Během metabolismu lipoproteinů dochází v krevním řečišti k intenzivním výměnám mezi jednotlivými třídami lipoproteinů, a to jak apoproteinů (zejména C rodiny), tak lipidů (cholesterolu, fosfolipidů). Tyto výměny úzce souvisí s intravaskulární degradací lipoproteinů a jejich využitím periferními tkáněmi. Jedná se o značně komplikovaný proces, který v tomto textu může být pouze schematicky naznačen (viz následující schéma).

Metabolismus lipoproteinů

Během metabolismu lipoproteinů dochází v krevním řečišti k intenzivním výměnám mezi jednotlivými třídami lipoproteinů, a to jak apoproteinů (zejména C rodiny), tak lipidů (cholesterolu, fosfolipidů). Tyto výměny úzce souvisí s intravaskulární degradací lipoproteinů a jejich využitím periferními tkáněmi. Jedná se o značně komplikovaný proces, který v tomto textu může být pouze schematicky naznačen (viz následující schéma).

Enzymy a transportní proteiny v lipoproteinovém metabolismu

Enzym/protein	Kofaktor	Funkce
Postheparinové lipázy (PHL) Lipoproteinová lipáza (LPL)	Apo C-II	Hydrolýza exogenních triacylglycerolů v chylomikrech.
Jaterní triacylglycerolová lipáza (HTGL) Fosfolipázy	Žádný kofaktor	Hydrolýza triacylglycerolů a fosfolipidů v IDL a HDL. Hydrolýza fosfolipidů, nejasná funkce v metabolismu lipoproteinů
Lecitin-cholesterol-acyltransferáza (LCAT)	Apo A-I (Apo A-IV, C-I, D)	Tvorba více jak 80% esterů cholesterolu z volného cholesterolu a lecitinu ^{*)} , konverze HDL ₃ na HDL ₂
Přenašečové proteiny Protein přenášející estery cholesterolu		Reaktant HDL/LCAT komplexu, výměna esterů cholesterolu z HDL za triacylglyceroly VLDL, výměna a přenos lipidů z jádra/core (částice)
Protein přenášející fosfolipidy		Výměna fosfolipidů mezi lipoproteinovými třídami, účast v transportu vitamínů rozpustných v tucích (tj. vitamínu E)

^{*)} Jaterní LCAT katalyzuje esterifikaci hydroxylové skupiny lipoproteinového cholesterolu přenosem mastné kyseliny z C-2 pozice lecitinu. Lecitin je všeobecný název pro skupinu žlutohnědých lipidových substancí nacházejících se v živočišných a rostlinných tkáních a ve vaječném žloutku, složených s kyseliny fosforečné, cholinu, mastných kyselin, glycerolu, glykolipidů, triacylglycerolů a fosfolipidů (fosfatidylcholinu, fosfatidyl etanolaminu a fosfatidylinositolu – viz tabulka na konci kapitoly).

Chylomikrony

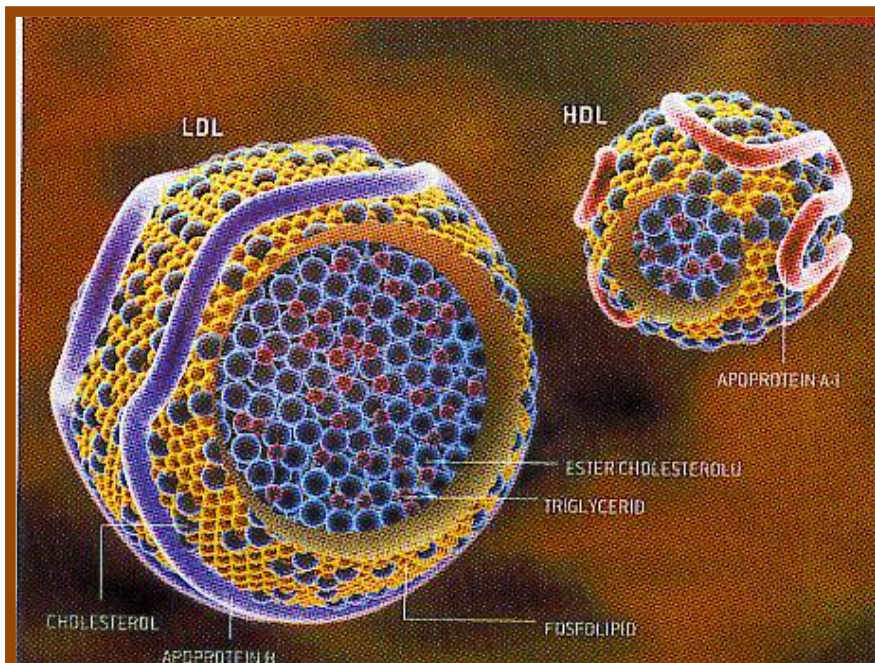
Jsou bohaté triacylglyceroly (přijaté potravou), obsahují zejména apoproteiny A-I, A-II, A-IV a B48. Proteiny a fosfolipidy spolu tvoří chylomikrony se syntetizují v enterocytech. Kapacita syntézy je omezena, takže se vrůstající nabídkou triacylglycerolů nedochází k produkci vyššího počtu částic, ale k růstu jejich velikosti (až do 1 μm). Chylomikrony vstupují do systémové cirkulace prostřednictvím *ductus thoracicus* a poté recirkulují do jater. Zpočátku chylomikrony nemají žádné apolipoproteiny, takže mohou být přijaty jaterními receptory. Po vstupu do krve ztrácejí apo A-IV a A-I a naopak získávají apo C a apo E. Apo C-I aktivuje lipoproteinovou lipázu (LPL) v kapilární stěně, která hydrolyzuje většinu triacylglycerolů v jádru chylomikrů. Uvolněné mastné kyseliny jsou vychytávány zejména tukovou tkání a svalovými buňkami. Povrchové komponenty (apo C, A-I a také určité množství volného cholesterolu, fosfolipidy) se stávají nadbytečnými a jsou uvolněny. Výsledné lipoproteinové komplexy náleží do třídy HDL. Chylomikronové zbytky jsou rozeznávány odklízecími/zbytkovými receptory hepatocytů, které rozpoznávají apo E a jsou v játrech degradovány.

VLDL a LDL

Endogenně tvořené lipidy vstupují do plazmy ve formě VLDL. Obsahují apo B 100, apo E a peptidy C. Rovněž VLDL mění své apoproteinové složení během působení lipoproteinové lipázy což vede k tvorbě malých částic bohatých na cholesterol a chudých na triacylglyceroly. Tyto částice jsou známy jako *VLDL zbytky* či IDL. Jsou částečně vychytávány játry a částečně jsou přeměňovány na LDL, když během tohoto procesu ztrácejí apo E a apo C. Odstranění peptidů C a další přeměna na LDL je spojeno s aktivitou LPL či H-TGL (triglyceridové hydrolázy). U lidské populace asi 80% prekurzorů LDL přechází přímo do jater, méně než 20% VLDL je přeměněno na LDL. Prekurzory bohaté na apo E se vážnou tímto proteinem na *jaterní B,E receptor*, IDL a LDL se vážnou prostřednictvím B 100.

Jediným apoproteinem, který zůstává v částici během celého procesu je apo B, který se v závěru stává prakticky jediným apoproteinem v LDL. *LDL dopravuje do periferních buněk cholesterol* a další LDL složky, včetně vitamínů rozpustných v tucích. Nicméně velká část LDL znovu prochází játry. Kolem 60-90% katabolismu LDL je zprostředkováno receptory, 10-40% je odstraňováno z plazmy tzv. *odklízečí/scavenger cestou*. Rozsah katabolismu LDL závisí jak na apo B,E receptorech, tak na afinitě ligandu apo B. Bodová mutace genu produkujícího apo B 100 má za následek značně sníženou schopnost vazby LDL na receptor.

Vzhledem k tomu, že každá LDL částice obsahuje pouze jednu apo B 100 molekulu, může tato mutace ovlivnit polovinu všech LDL částic. Tyto částice pak v krvi převládají, protože jsou degradovány mnohem pomaleji.

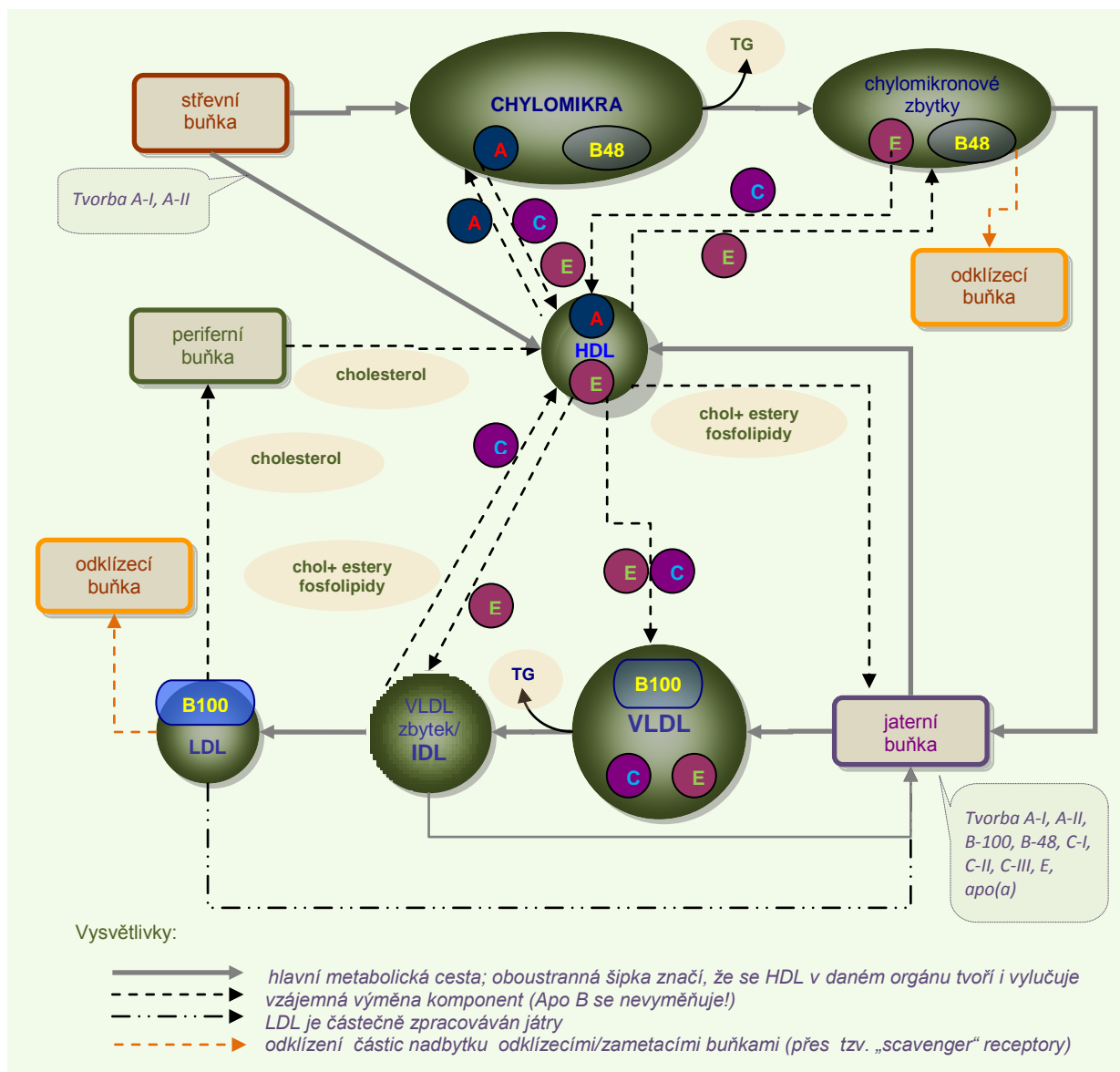


Malé částice LDL se vážnou méně efektivně prostřednictvím B 100 E receptoru, přežívají tedy v krevním oběhu déle, více podléhají změnám, a proto *jsou více aterogenní* než velké částice LDL. Tyto malé LDL částice *jsou rovněž spojeny s diabetem mellitus*, Jejich přítomnost je předzvěstí vzniku diabetu 2. typu. Při převaze malých LDL částic se rovněž vyskytuje hypertriglyceridemie a snížená koncentrace HDL cholesterolu. Zvýšený výskyt malých LDL částic je spojen jak s již zmíněným diabetem 2. typu, tak se vzrůstajícím věkem, s nesprávnou dietou (dieta se sníženým obsahem tuků vede k redukci těchto částic), do určité míry je i geneticky předurčen.

Poznámka: lze si všimnout, že povrch lipoproteinu tvoří apoprotein, volný cholesterol a fosfolipidy (lipofilní konec molekuly mají orientovaný dovnitř částice, hydrofilní konec vně částice), jádro lipoproteinu pak tvoří zcela hydrofobní/lipofilní triacylglyceroly a estery cholesterolu. Tímto uspořádáním je zajištěna rozpustnost částice ve vodných roztocích.

Video endocytózy LDL a působení LPL na LDL na adrese <http://biofxs.com/endocytosis3small.html>

Zjednodušené schéma metabolismu lipoproteinů



Poznámka: schéma je značně zjednodušeno, není např. zakreslena diskoidní forma HDL (nascentní HDL), úplné složení lipoproteinů, konkrétní výměna apolipoproteinů a lipidů je neúplná, jsou vynechány meziprodukty, vazba na receptory, působení enzymů atd. V principu jsou zřejmé: vzájemné předávání obsahu, vylučování cholesterolu z periferních buněk částicemi HDL, hlavní metabolické cesty. Podrobněji k metabolismu lipidů a lipoproteinů viz např.: www.is.muni.cz/do/1499/el/estud/fsps/js06/t031/Metabolismus_tuku.pdf Výborná stránka o lipoproteinech (včetně videí): <http://www.ks.uiuc.edu/Research/Lipoproteins/> Velmi pěkná prezentace o cholesterolu, lipoproteinech atd.:

http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=estery%20cholesterolu&source=web&cd=2&ved=0CCoOFiAB&url=http%3A%2F%2Fwww.lf2.cuni.cz%2Fustav%2Fbiochemie%2Fvuka%2Fcholesterol.ppt&ei=fYmaT8_MKsqD-wa1ye3nDg&usq=AFQjCNHaExmKivMvLHInRWqkOsPbZXDdHQ

HDL a reverzní transport cholesterolu

Vystopovat metabolické cesty HDL je velmi obtížné, protože HDL neobsahuje žádné specifické složky, které by zůstávaly v částici v konstantním množství. Zdroji prekursorů HDL jsou *nascentní* (nově vytvořené) HDL syntetizované v játrech a povrchové zbytky vzniklé degradací chylomikronů. Jejich skladba je shodná:

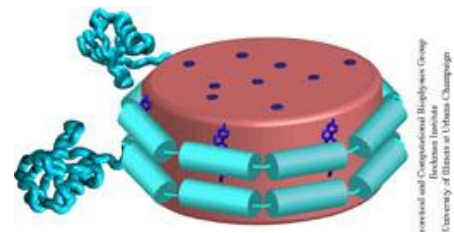
fosfolipidy, volný cholesterol a apo A-I jsou uspořádány do dvou vrstev, takže výsledná konstituce se v elektronovém mikroskopu jeví jako disk. Nazývají se proto *diskoidní HDL*.

Nejdůležitější biologickou funkcí HDL je *udržení cholesterolové homeostázy*: odnímání volného cholesterolu periferním buňkám a jeho esterifikace, aby mohl být přenesen do VLDL zbytků a transportován do jater k eliminaci. Tento děj je řízen tzv. *komplexem reverzního transportu cholesterolu*, který sestává z lecitin cholesterolové acyltransferázy (LCAT), apoproteinů A-I, E a D, určitých proteinů přenášejících lipidy (protein přenášející estery cholesterolu – CETP) a systému monocytu/makrofágy.

HDL částice bohaté volným cholesterolem poskytují substrát enzymu esterifikujícímu cholesterol – LCAT. Během tohoto procesu se utvářejí sférické částice jako výsledek ukládání esterů cholesterolu do hydrofobního jádra HDL.

Protein přenášející estery cholesterolu (CETP) přenáší estery cholesterolu vzniklé činností LCAT do lipoproteinů bohatých triacylglyceroly, především do VLDL zbytků, se kterými přecházejí do jater. Triacylglyceroly a fosfolipidy HDL jsou hydrolyzovány *jaterní triacylglycerolovou hydrolázou* (H-TGL) za vzniku menších a těžších částic (HDL₃), které mohou velmi snadno vychytávat buněčný cholesterol a jsou lepším substrátem pro LCAT. HDL₂ vznikají pravděpodobně z HDL₃: obohacují se estery cholesterolu (z reakce LCAT) a příjmem triacylglycerolů výměnou za estery cholesterolu (CETP reakce).

Tato transformace vyžaduje nejenom příjem cholesterolu, ale také inkorporaci molekuly apo A-I na částici. Poměr A-I/A-II je v HDL₂ třídě vyšší než ve třídě HDL₃.



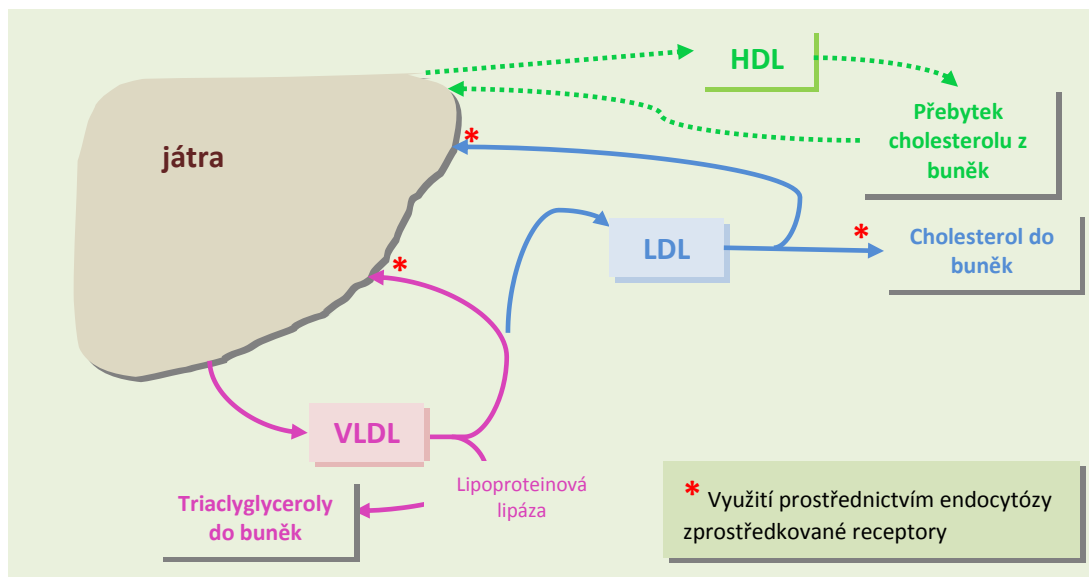
Nascentní HDL

Existuje úzký vztah mezi aktivitou lipolytických enzymů (LPL a H-TGL) a koncentrací HDL. V případě deficiencie LPS nebo slabě metabolizovatelných VLDL dochází ke snížení tvorby HDL₂. Se vzrůstem katabolismu VLDL vzrůstá i katabolismus HDL. Aktivita H-TGL je inhibována estrogeny a stimulována androgeny. Ženy mají proto zvýšenou opačnou přeměnu, tj. HDL₂ na HDL₃, což vysvětluje vyšší koncentrace HDL u premenopausálních žen. Je rovněž zvýšena syntéza apo A-I. U některých hypertriacylglycerolemií je zpomalena výměna apo C mezi VLDL a HDL. Na druhé straně mnoho triacylglycerolů je vyměňováno za estery cholesterolu. HDL bohaté na triacylglyceroly jsou rychle katabolizovány H-TGL. To vysvětluje negativní vztah mezi koncentrací HDL a triacylglycerolemií.

V reverzním transportu cholesterolu hrají důležitou roli *makrofágy*. Akumulace cholesterolu stimuluje tyto buňky k syntéze velkého množství apo E, který je vylučován ve formě *apo E/fosfolipidových disků* a slouží jako *akceptor cholesterolu nezávislý na HDL*. Během esterifikace cholesterolu v reakci s LCAT inkorporují HDL z těchto disků apo E. Tyto *cholesterol ester- a apo E-bohaté HDL* jsou pravděpodobně rozpoznávány přednostně apo E receptorem v játrech a vychytávány.

Tyto mechanismy mohou vysvětlovat *protektivní funkci HDL proti ateroskleróze*. Rovněž mohou vysvětlit inverzní vztah mezi koncentrací HDL rizikem kardiovaskulárního onemocnění, nalezený četnými epidemiologickými studiemi. Nicméně stále ještě nevíme, zda existuje vztah mezi efektivitou reverzního transportu cholesterolu a koncentrací HDL v plazmě.

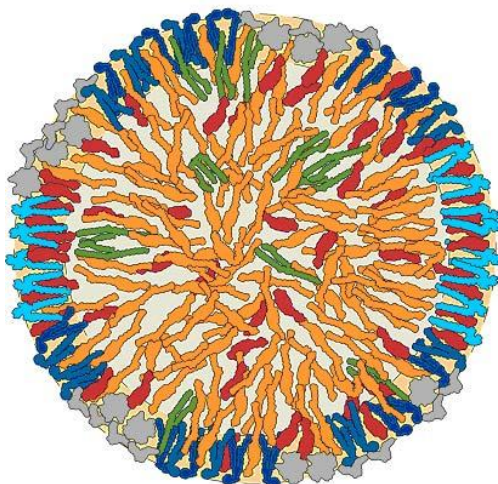
Zjednodušené schéma metabolismu lipoproteinů



Lipoprotein(a)

O metabolismu lipoprotein(a) je známo poměrně málo. Apo(a)-mRNA se nachází v játrech, ve stopách v mozku a ve varlatech. Význam přítomnosti této nukleové kyseliny v posledních dvou jmenovaných orgánech je nejasný. Jediným významným místem syntézy apo(a) jsou játra. Játra jsou i nejvýznamnějším producentem apo B 100, druhého apoproteinu nacházejícího se v Lp(a). Výsledky experimentů naznačují, že apo(a) je secernován hepatocyty a na LDL částice se váže extracelulárně. Degradační cesta Lp(a) není jasná. Principiálně může být Lp(a) vycitáván LDL receptorem, ale zdá se, že tato degradační cesta hraje pouze podřadnou roli in vivo. Do nedávna se předpokládalo, že místem degradace Lp(a) mohou být další členové rodiny LDL receptorů (tj. VLDL receptor, receptor pro protein příbuzný LDL, megalin). Bez ohledu na otázku molekulárního receptoru pro Lp(a) není zodpovězena ani otázka orgánu, ve kterém je Lp(a) štěpen. Pozornost se nyní upírá na ledviny, jako možné místo katabolismu Lp(a).

Lp(a) může mít přímý aterogenní účinek. Díky své strukturální podobnosti s plasminogenem může mít apo(a) trombogenní účinek. Mechanismus účinku aterogenního efektu však dosud není znám, existují vysvětlující hypotézy, které mají své pro i proti. Každopádně platí, že *lidé s vysokým Lp(a) (nad 300 mg/l) a zvláště lidé s vysokým Lp(a) i LDL současně mají obzvláště vysoké riziko kardiovaskulárního onemocnění.*



Schematický molekulární model LDL částice

Jednotlivé barvy představují
 tmavě modrá = fosfatidylcholin
 světle modrá = sfingomyelin
 tmavě žlutá = estery cholesterolu
 červená = cholesterol
 zelená = triacylglyceroly
 šedá = apolipoprotein B-100

Jednotlivé lipidy viz schéma na str. 11-19

Zdroj:

<http://www.lce.hut.fi/research/sysbio/biospectroscopy/lipoprotein/>

Úloha lipoproteinových receptorů

Receptory na povrchu buněk hrají *klíčovou roli v metabolismu lipoproteinů*. Lipoproteinové receptory jsou rozhodující pro udržení homeostázy plazmatických lipoproteinů a pro buněčný metabolismus. Nejlépe prozkoumaným je *LDL receptor (apo B, E receptor)*. Jedná se o glykoprotein vyskytující se na většině tělesných buněk. Nejvyšší *hustota* receptorů je v nadledvině a ve vaječnicích, ale nejvyšší *počet* receptorů LDL obsahují játra. LDL receptory se kupí/hromadí v tzv. *coated pits* (potažených jamkách), které se po vazbě LDL dostanou do nitra buňky ve formě endosomů (*buněčná organela, do níž putují endocytotické váčky*). Uvnitř buňky se receptory oddělí od ligandů a mohou být znovu použity (recyklace receptorů). Endosomy se sloučí/sfúzí s lysosomy, které obsahují paletu enzymů, schopných rozštěpit proteiny a lipidy, zvl. estery cholesterolu. Volný cholesterol inhibuje syntézu jak receptorů, tak HMG-CoA reduktázy, tzn., že receptory jsou regulovány obsahem cholesterolu a požadavky buněk na cholesterol. Přebytek cholesterolu je esterifikován mastnými kyselinami *acyl CoA acyltransferázou* (ACAT) a převeden na skladovací formu. To chrání buňky před jejich zahlcením volným cholesterolem.

Kromě *apo B 100*, hlavního apolipoproteinu LDL, váže LDL receptor také *apo E*, a proto se nazývá *apo B100-E receptor*.

Lipoproteiny bohaté apo E se vážou 100x silněji, čehož výsledkem je akcelerace vychytávání VLDL zbytků a IDL. LDL receptor má dvě funkce: doručení cholesterolu do buněk a tkání (regulované poptávkou) a regulaci hladiny cholesterolu v krevním řečišti.

Pacienti s kongenitální receptorovou deficiencí jsou schopni katabolizovat chylomikronové zbytky a další lipoproteiny obsahující apo E. Umožňuje to *LDL receptorový protein (LRP)*. LRP je multifunkční receptor: váže *apo E, LPL, HTGL, apo B 100* a *apo(a)*. LRP se nachází v mnoha tkáních včetně neuronů a astrocytů. Vzhledem k velkému počtu ligandů je úkol tohoto receptoru zřejmě daleko širší než jen pouhé čištění od chylomikronových zbytků.

Dále byl popsán *VLDL receptor*, který se nachází v endoteliálních buňkách zvl. mimojaterních orgánů (srdce, kosterní svalstvo, mozek, makrofágy).

Jak již bylo zmíněno, existuje ještě přídatný mechanismus využití LDL buňkami, tzv. *scavenger pathway (odklízeč cest)*. Odklízečí receptory tvoří velkou rodinu receptorů a dělí se do šesti tříd: SR-A až SR-F. Nacházejí se v buňkách RHS (monocyty, makrofágy, Kupfferovy buňky), ve hladkém svalstvu a endoteliálních buňkách cévní stěny a vážou *chemicky nebo enzymaticky modifikované, acetylované, oxidované a glykované LDL*. Tyto odklízečí cesty nemohou být ani regulovány ani saturovány a jsou využívány vždy, když aktivity mechanismů specifického receptoru jsou omezeny. To nevyhnutelně vede, u zvýšených koncentrací LDL, k přesycení odklízečích buněk cholesterolem, které degenerují na *pěnové buňky* přeplněné lipidy a které hrají významnou roli v aterosogenezi. Na druhé straně, odklízečí receptory zjevně odstraňují pozměněné LDL z plazmy a tak chrání organismus před zátěží těmito lipoproteiny.

Stručné video znázorňující strukturu lipoproteinů a úlohu lipoproteinových receptorů lze nalézt na adrese:

<http://video.aol.com/video-detail/lipoprotein-structure/94749093>

Metody stanovení lipoproteinů

Ultracentrifugace

tj. centrifugace s vysokou odstředivou silou (*g*), v hustotním gradientu, v běžné rutinní praxi se nepoužívá; dělení do tříd je uvedeno výš, jednotlivé frakce se dělí podle své hustoty

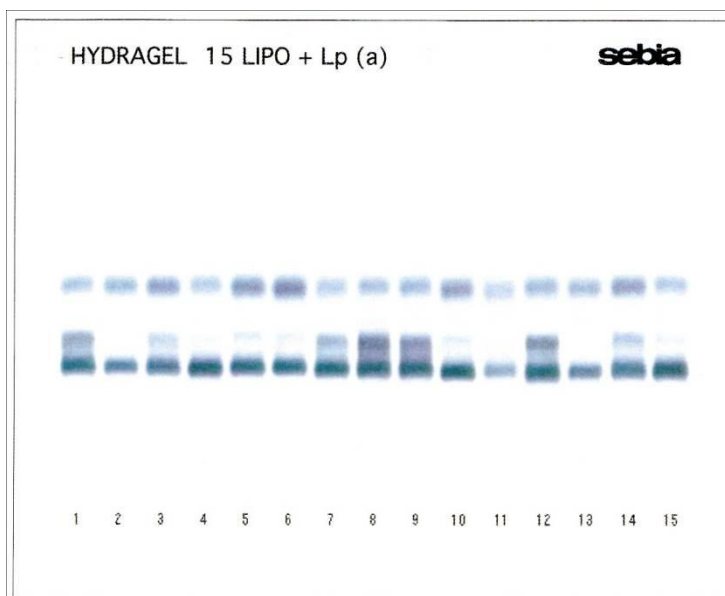
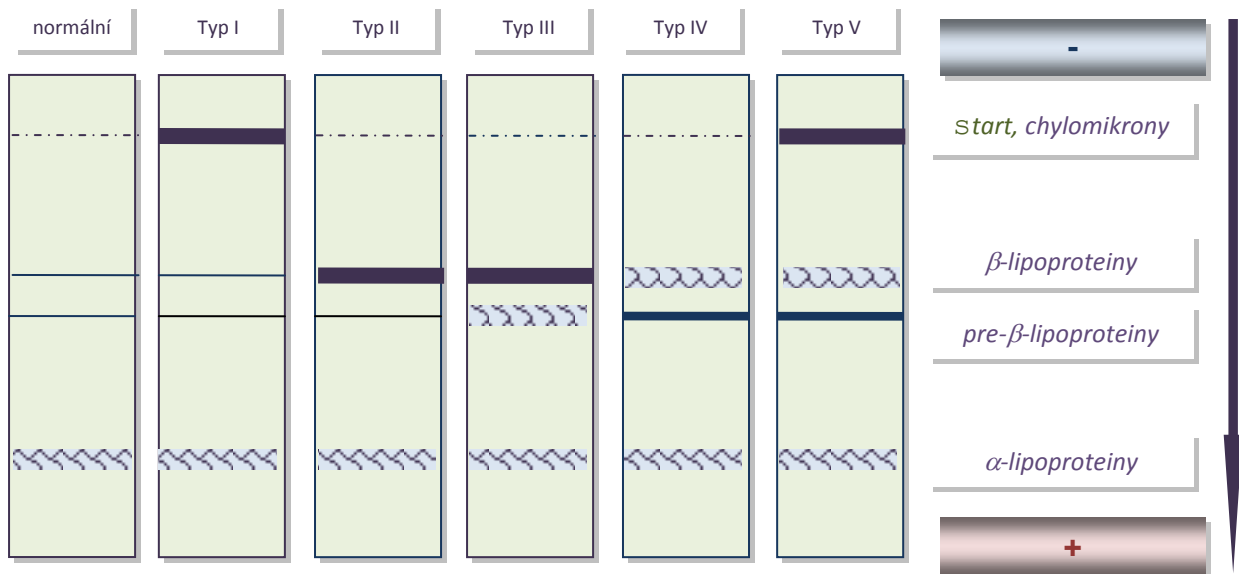
Elektroforetické dělení

na různých nosičích. Elektroforetický se rozdělí lipoproteiny do čtyř tříd, které odpovídají dělení podle výsledků ultracentrifugace (viz závorka):

- chylomikrony (chylomikrony)
 - β -lipoproteiny (LDL)
 - pre- β -lipoproteiny (VLDL)
 - α -lipoproteiny (HDL)
- ↓ směr dělení

Na základě ultracentrifugace a tomu odpovídajícího elektroforetického dělení (sér pacientů s poruchami metabolismu lipidů), rozlišoval *Fredrickson* pět typů *hyperlipoproteinémií*. Jednotlivé třídy se lišily podle obsahu příslušných lipoproteinů. Toto dělení se dnes již neužívá, elektroforéza lipoproteinů se však stále běžně provádí. Pro ilustraci je ono dělení do pěti tříd uvedeno na schématu.

Schéma elektroforézy lipoproteinů



Vysvětlivky a poznámky

----- představuje start dělení, případně na tomto místě zůstávají chylomikrony; β , **pre- β** , α jsou beta, pre-beta a alfa lipoproteiny (toto pojmenování je odvozeno právě z elektroforetické pohyblivosti: „alfa“ putují nejdál, před „beta“ jsou „pre-beta“). Charakter jednotlivých „čar“ na schématu naznačuje obrazec po výsledném barvení elektroforeogramu lipidovými barvivy (např. Sudanovou černí)

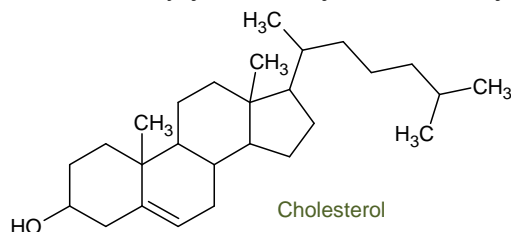
Na obrázku vlevo je elektroforeogram dělení lipoproteinů a Lp(a) na folii s agarosovým gelem Hydragel 15 LIPO + Lp (a) firmy Sebia

Lipoprotein (a)

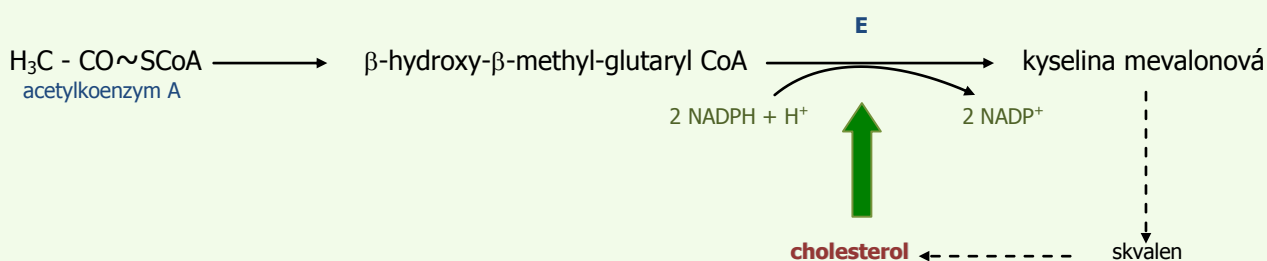
Stanovuje se elektroforeticky nebo imunochemicky.

Cholesterol

Cholesterol je živočišný sterol s 27 uhlíky, jednou dvojnou vazbou a jednou alkoholickou skupinou .



Náznak syntézy cholesterolu v organismu



E = β -hydroxy- β -methyl-glutaryl CoA-reduktáza

β -hydroxy- β -methyl-glutaryl CoA-reduktáza je klíčový enzym v metabolismu cholesterolu – plná šipka naznačuje regulaci zpětnou vazbou (produkt = cholesterol – potlačuje tvorbu enzymu); enzym má poločas několik hodin a jeho nízká hladina znamená nízkou syntézu cholesterolu a opačně; schopnost syntézy tohoto enzymu mají zřejmě všechny buňky. Čárkované šipky naznačují, že metabolická cesta obsahuje ještě další meziproducty (cesta není znázorněna úplně)

Cílové hodnoty: do 5,0 mmol/l

Metody stanovení

Neenzymové – levné, nevhodné k automatizaci

Enzymové – dražší, vhodné zejména pro automatizaci

Neenzymové metody – principy

- Liebermannova-Buchardtova reakce:
cholesterol + kyselina sírová + anhydrid kyseliny octové = **zelené zbarvení**
- Zlatkissova reakce:
cholesterol + kyselina sírová + ledová kyselina octová + Fe^{3+} = **červené zbarvení**

Bilirubin a hemoglobin v obou případech falešně zvyšují výsledky stanovení cholesterolu. Obě metody se používají (resp. používaly) v různých modifikacích

Diagnostická souprava PLIVA-Lachema Diagnostika: Cholesterol (CHOL 150): Modifikace podle Liebermanna a Burchardta, kromě kyseliny sírové a anhydridu kyseliny octové (= acetanhydridu) vstupuje do reakce navíc kyselina 2,5-dimethylbenzensulfonová, která potlačuje interferenci bílkovin. Zelené zbarvení je fotometrováno při 560 – 590 nm. Reakce probíhá asi 15 min, teplota se má pohybovat mezi 10 – 20 °C

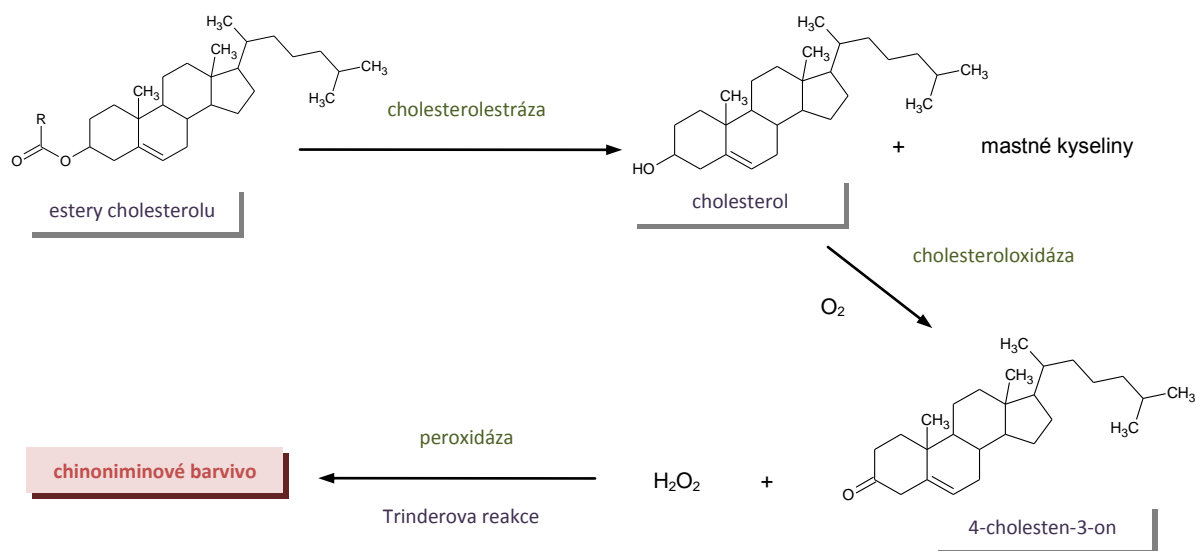
(nutné chlazení!), zbarvení je stálé 45 min. Interferuje bilirubin, hemoglobin (hemolýza vadí!) výsledek je závislý i na kvalitě chlazení.

Normální hodnoty pro tuto metodu uvádí výrobce v rozmezí 4,65 – 6,46 mmol cholesterolu/l (pro obě pohlaví) – viz poznámky dále.

Referenční metoda

podle *Abella-Kendalla/Leveye-Brodieho*: Cholesterol a estery cholesterolu se extrahují ze séra, pak se estery cholesterolu zhydrolyzují a nakonec se barevnou Liebermann-Buchardtovou reakcí stanoví celkový cholesterol. Tímto postupem dojde ke stejnému vybarvení obou složek (estery mají jinou výtěžnost v reakci s činidlem než volný cholesterol) a k odstranění interferencí

Principy enzymových metod stanovení cholesterolu



Diagnostické soupravy PLIVA-Lachema Diagnostika:

Cholesterol 250, 2500 (CHOL 250, 2500), fotometrie při 460 – 540 nm; soupravy se liší velikostí balení
Cholesterol Liquid 400, 1000 (CHOL 4x100, 1x1000)

Soupravy obsahující CHOD (cholesteroxidázu) a POD (peroxidázu), s kapalnými reagensy (liquid = kapalný, kapalina); výsledné růžové zbarvení se fotometruje při 500 – 520 nm a při 546 nm

Soupravy se liší pouze velikostí balení

HDL-cholesterol

HDL-cholesterol (HDL-C) je cholesterol nacházející se v HDL částicích. Podrobnosti k HDL-C viz v části věnované lipoproteinům.

Metody stanovení

Precipitační frakcionace

Pro *oddělení frakce s HDL-cholesterolem* se používají různá *srážecí činidla*, nejčastěji je používán roztok chloridu hořečnatého a kyseliny fosfowolframové. Po centrifugaci je HDL-cholesterol obsažen v supernatantu (nad sraženinou částic LDL a VLDL – viz dál), kde se stanoví buď neenzymově, nebo enzymově; dalším srážedlem jen např. směs dextransulfátu, heparinu s manganatými ionty a PEG 6000 a další

Elektroforetické stanovení

HDL je v α_1 -frakci; kvantifikace je možná při použití enzymových reagensů (cholesterolesteráza, cholesterol oxidáza, peroxidáza), případně kombinace cholesterolreduktázy s nitrotetrazoliovou modří (NBT); metoda poskytuje informace i o přítomnosti abnormálních lipoproteinů, např. Lp(a)

Gradientová gelová elektroforéza (GGE)

tj. ELFO v gradientovém polyakrylamidovém gelu, dělení probíhá podle velikosti částic

Kapilární izotachoforéza

Dělení se děje podle efektivní pohyblivosti částic mezi vedoucím a koncovým elektrolytem

Vysokoúčinná gelová chromatografie (HPGC)

dělení podle velikosti částic v gelově permeačních kolonách

Imunochemická separace

dělení podle různého obsahu apolipoproteinů za použití protilátek proti apo A1, apo A2 a apo E - metody

- imunoafinitní chromatografie
- imunoelektroforetické techniky

Ultracentrifugace v hustotním gradientu

dělení podle rozdílů v hustotě lipoproteinů

Homogenní metody (přímé metody)

Existuje celá řada metod, které lze seřadit podle různých principů. Existuje jistě i jiné dělení než dále uvedené, ale můžeme uvést, jako velmi jednoduché, např. toto rozdělení metod:

- metody blokovací
- metody imunoinhibiční
- metody *eliminační*.

V principu se vždy jedná o to, nějakým způsobem *zabránit reagování cholesterolu obsaženého v jiných frakcích, než je frakce HDL*, s činidlem pro stanovení cholesterolu. Podle způsobu provedení této zábrany, se metoda jmenuje.

- **Blokovací metody** (princip: *maskování non-HDL*, tj. všech tříd lipoproteinů kromě HDL, blokovacím činidlem)
 - LDL, VLDL a CHM vytvoří s blokovacím činidlem komplexy neschopné reakce s enzymovým činidlem; to reaguje pouze s cholesterolem obsaženým v HDL
Výrobci souprav: Roche (HDL-C Plus Assay), Sentinel, Dialab
 - blokovací činidlo se adsorbuje na povrch LDL, VLDL a chylomikronů a převede je na rozpustné komplexy odolné denuraci; naopak HDL se zdenaturuje a cholesterol uvolněný z HDL se enzymaticky stanoví
Výrobci souprav: Dajichi Pure Chemicals Company, Japonsko; Genzyme Corporation, Cambridge, Velká Británie
- **Imunoinhibiční metody** (princip: *maskování non-HDL pomocí specifické protilátky*)
 - za použití činidla obsahujícího protilátky proti apo B a apo C-III dojde k tvorbě komplexů všech tříd lipoproteinů kromě HDL; potom se enzymaticky stanoví cholesterol v HDL
Výrobci souprav: International Reagent Corporation, Japonsko (IRC)
 - činidlo s obsahem protilátek proti lidským β -lipoproteinům vytvoří s non-HDL LP rozpustné komplexy, které nereagují s enzymatickým činidlem; s tím naopak reaguje cholesterol obsažený v HDL (tzv. *imunoseparační metoda*)
Výrobci souprav: Wako Pure Chemical Industry, Japonsko
- **Eliminační metoda** (princip: postup zahrnující *odstranění non-HDL* a v nich obsaženého cholesterolu)
 - pufr o specifické iontové síle rozruší non-HDL, cholesterol v nich obsažený je enzymaticky pozměněn a uvolněný peroxid vodíku rozložen katalázou; v dalším kroku dojde k inhibici katalázy azidem sodným, k rozpuštění HDL-cholesterolu v detergentu a jeho následnému enzymatickému stanovení
Výrobci souprav: Denka Seiken Co., Japonsko; Randox Laboratories Limited, Velká Británie

Souhrn:

- non-HDL vytvoří s blokovacím činidlem (blokovací metody) nebo s protilátkami (imunoinhibiční metody) nerozpustné nebo rozpustné komplexy (v nich obsažený cholesterol *nereaguje*) a enzymaticky se stanoví cholesterol v HDL
- non-HDL se rozruší pufrům, non-HDL cholesterol je pozměněn a enzymaticky se stanoví cholesterol v HDL (eliminační metoda)

Referenční metody

využívají kombinace ultracentrifugace, selektivní precipitace a stanovení cholesterolu s využitím *Abellovy-Kendallov*y metody (viz *Cholesterol*)

Poznámka: Je třeba vědět především o homogenních (přímých) metodách, protože začínají být hojně užívány a v dohledné době zcela jistě budou v běžném laboratorním provozu převažovat. Jsou to metody vhodné k použití v automatických analyzátoch. Ostatní metody jsou metody běžně užívané při dělení lipoproteinů

Principy dvou konkrétních diagnostických souprav od dvou výrobců

- **Diagnostická souprava firmy Sentinel, HDL Cholesterol, Direct Liquid D.P.R.,** využívá ve vhodném prostředí (pufro a tzv. tenzidů – povrchově aktivních látek – se specifickou afinitou k jednotlivým třídám lipoproteinů) sérii enzymatických reakcí k eliminaci cholesterolu v částicích LDL a VLDL a další sérii enzymatických reakcí k převedení HDL-cholesterolu na chinonové barvivo, jehož intenzita zbarvení se fotometruje (*eliminační metoda*); fotometrie při 600 nm
- **Diagnostická souprava firmy PLIVA-Lachema Diagnostika, HDL Cholesterol Direct Liquid 80,** používá protilátku proti lidským lipoproteinům, která reaguje se všemi lipoproteiny kromě HDL. Vzniklé imunokomplexy nemohou reagovat v následné reakci využívající cholesteroloxidázu a peroxidázu (viz enzymové stanovení cholesterolu) a reaguje pouze cholesterol v HDL částicích. Vzniklý peroxid vodíku reaguje v pozměněné Trinderově reakci na modré barvivo, které se fotometruje při 593 nm (imunoseparační metoda)

Cílové hodnoty: nad 1,0 mmol/l

Kromě absolutní hodnoty je důležitý i vztah k ostatním běžně stanoveným lipidům (cholesterolu a TG) a relativní obsah HDL-cholesterolu v celkovém cholesterolu. Obecně platí – čím vyšší podíl HDL-cholesterolu a čím méně celkového cholesterolu, tím lépe. Vychází se z toho, že HDL částice plní roli „odklizeče“ cholesterolu (buňky obsahující přebytek cholesterolu mohou HDL částicím nadbytečný cholesterol odevzdat).

LDL-cholesterol

LDL-cholesterol (LDL-C) je cholesterol nacházející se v LDL částicích. Hlavním apolipoproteinem je apo B.

Metody stanovení

Výpočet koncentrace LDL-C

Friedewald, W.T. (1972): $LDL-C = \text{cholesterol} - (TG \times f)$ [mmol/l], kde $f = VLDL-C/VLDL-TG = 0,45$

Jiná forma této rovnice: $LDL-C = \text{cholesterol} - ((TG/2,2) + HDL-C)$

Podmínka platnosti výpočtu: triacylglyceroly < 5,6 mmol/l

Existuje několik možností výpočtu, což jsou modifikace původního *Friedewaldova* vzorce, které zahrnují hladinu celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triacylglycerolů. Výpočty jsou více či méně ovlivněny hypertriacylglycerolémií.

Precipitace sulfatovanými polyanionty

Principem je selektivní precipitace HDL-C látkami jako jsou dextran, polyvinylsulfát, heparin)

Příklady použití u některých výrobců dg. souprav:

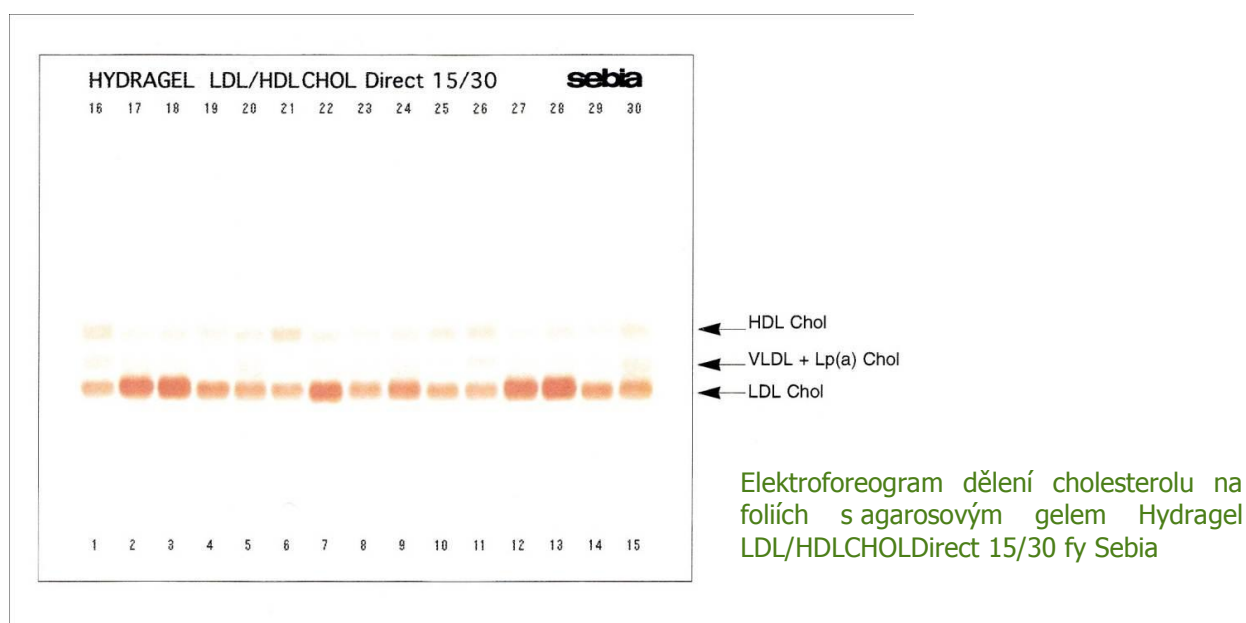
- heparin v citrátovém pufru (Merck)
- polyvinylsulfát v přítomnosti EDTA a polyetylen glykolmetyléteru (ROCHE)

Imunoseparační metoda

Principem je selektivní imunoprecipitace VLDL, IDL a HDL pomocí polystyrenových latexových částic s navázanými polyklonálními protilátkami proti apo A1 a apo E. Precipitované částice se zachytí na filtru, LDL a Lp(a) zůstávají ve filtrátu a v nich obsažený cholesterol se enzymaticky měří

Elektroforetické stanovení LDL-C

Principem je separace lipoproteinů v agarosovém gelu v barbitalovém pufru o pH 8,6, s enzymatickým vybarvením frakcí



Vysokoučinná gelová chromatografie (HPGC)

Principem je dělení na základě velikosti molekul, na výstupu kolony je spřažená enzymatická reakce s fotometrií při 550 nm; výhodou je stanovení LDL-C bez Lp(a)

Ultracentrifugační separace lipoproteinů

Rozdělení/separace lipoproteinů v solném gradientu na základě jejich flotace (viz tabulka na str. 2).
Neužívá se rutinně (v běžné praxi zdravotnické laboratoře).

Homogenní (přímé) metody (srovnej též stanovení HDL-C)

- **Metody využívající polyétery v kombinaci se sulfatovanými cyklodextriny:** non-LDL vytvoří *neprecipitující komplexy* s α -cyklodextrinsulfátem, cholesterol v těchto komplexech enzymatické reakci nepodléhá; pomocí neionogenního detergentu se rozpustí LDL a cholesterol v nich obsažený se stanoví enzymaticky (blokační metoda)

Výrobci souprav: Kyowa Medex, Japonsko; Roche

- **Eliminační metoda (detergent assay):** činidlo obsahující kombinaci polyaniontu a amfoterního detergentu *rozruší non-LDL částice* a rozpuštěný cholesterol je enzymaticky pozměněn za tvorby peroxidu, který je rozložen katalázou; v dalším kroku se přidá reagensie s neionogenním detergentem, dojde ke zrušení "blokování" LDL a k rozpuštění LDL-cholesterolu, který se stanoví enzymaticky

Výrobci (dodavatelé) souprav: Wako, Randox, BioVendor, PLIVA-Lachema Diagnostika aj.

Referenční metoda

Referenční metodou je tzv. *beta-kvantifikace*, která kombinuje ultracentrifugaci, precipitaci (heparin + $MgCl_2$) a referenční metodu stanovení cholesterolu podle *Abella-Kendalla*.

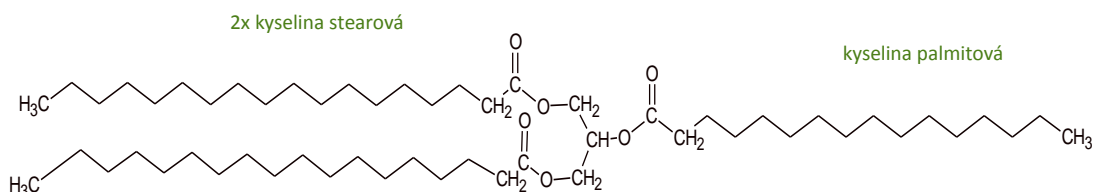
Z metod nejvíce používaný *výpočet* je v poslední době postupně nahrazován přímým stanovením LDL-C (homogenní metody)

Cílové hodnoty: do 3 mmol/l

Obecně platí, že hodnota LDL-cholesterolu by měla být co nejnižší. Vychází se z toho, že LDL částice transportují cholesterol do tkání (srovnej schéma metabolismu lipoproteinů).

Triacylglyceroly

Triacylglycerol



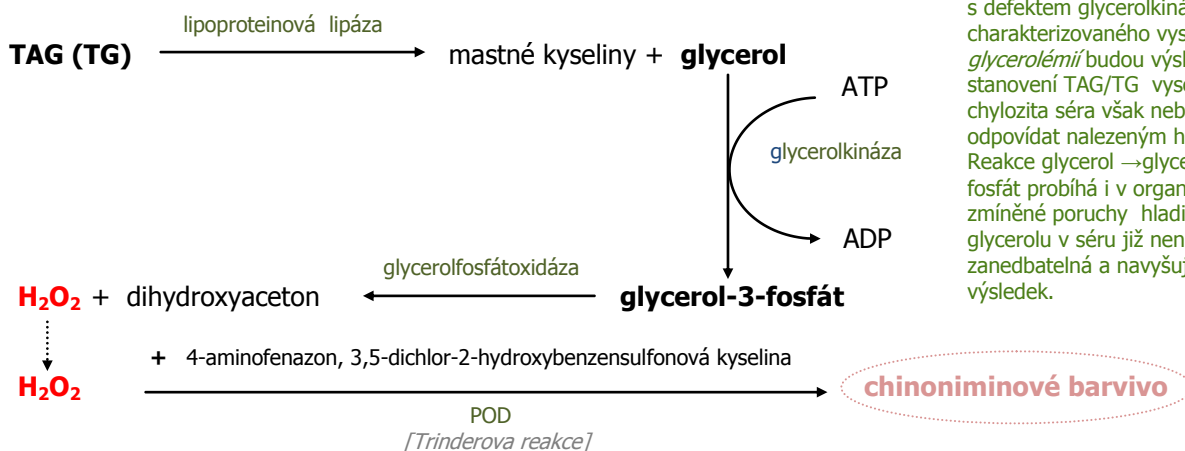
Metody stanovení

- Neenzymové – komplikované, levné, nespecifické, nevhodné k automatizaci
- Enzymové – jednoduché, drahé, specifické, vhodné k automatizaci

Neenzymové metody – princip extrakční metody

	Obecný postup	Souprava PLIVA-Lachema Diagnostika Triglyceridy 50
1.	Extrakce lipidů	Extrakce lipidů izopropanolem
2.	Odstranění fosfolipidů adsorpcí na adsorbent	Adsorpce fosfolipidů na oxid hlinitý (?), třepání na třepačce po dobu 10 – 15 min, centrifugace
3.	Zmýdelnění triacylglycerolů	Zahříváním při 60 °C s KOH po dobu 5 – 10 min
4.	Vysrážení nebo vyvázání mastných kyselin	Tvorba esterů s izopropanolem
5.	Oxidace (zbylého) glycerolu jodistanem na formaldehyd	Oxidační činidlo, 10 min při laboratorní teplotě
6.	Stanovení formaldehydu barevnou reakcí	Reakce formaldehydu s acetylacetonem za přítomnosti amonných iontů na světle žlutý 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin (<i>viz stanovení kyseliny močové</i>), při 60 °C po dobu 30 minut; následuje fotometrie při 410 nm

Enzymové metody – princip



V případě vzácného onemocnění s defektem glycerolkinázy charakterizovaného vysokou *glycerolémií* budou výsledky stanovení TAG/TG vysoké, chylozita séra však nebude odpovídat nalezeným hodnotám. Reakce glycerol \rightarrow glycerol-3-fosfát probíhá i v organismu. U zmíněné poruchy hladina glycerolu v séru již není zanedbatelná a navyšuje výsledek.

Diagnostické soupravy PLIVA- Lachema Diagnostika: Triglyceridy (TG 50), extrakční metoda, princip stanovení je popsán v tabulce výš; fotometrie při 405 – 420 nm; **Triacylglyceroly T 500** (TG T 10x50), fotometrie při 540 nm; **Triacylglyceroly Liquid 400** (TG L 4x100); fotometrie při 500, resp. při 546 nm; **Triacylglyceroly Liquid 1000** (TG L 1x1000) – metody s glycerolfosfátoxidázou a POD s kapalnými reagensy (liquid = kapalina, kapalný); fotometrie při 500, resp. při 546 nm; soupravy se liší pouze velikostí balení

Cílové hodnoty: do 2 mmol/l

Klinické poznámky

Hypertriacylglycerolemie: > 2 mmol TG/l

Mléčně zakalené sérum (chylózní sérum): > 4 mmol TG/l

Posuzování hladiny celkového cholesterolu nestačí, vždy je nutno sledovat i ostatní parametry, tj. hladinu triacylglycerolů a HDL a LDL cholesterolu. Velmi často se využívají i tzv. *lipidové indexy*.

Lipidové indexy

Poměr [cholesterol] / [HDL-C]

Tento ukazatel vyjadřuje podíl HDL cholesterolu k cholesterolu ve všech lipoproteinech (zejména v LDL). U mužů má mít tento poměr hodnotu menší jak 5,0 (lépe pod 4,5), u žen má mít hodnotu pod 4,0 (lépe pod 3,5). Někdy je tento poměr definován opačně, tj. [HDL cholesterol] / [cholesterol], hodnota pak v podstatě vyjadřuje procentový (jednicový) obsah HDL cholesterolu v celkovém cholesterolu: muži by měli mít alespoň 20% HDL cholesterolu z celkového obsahu cholesterolu, ženy alespoň 25%

$$\text{Aterogenní index (KLIMOV)} = (\text{cholesterol} - \text{HDL-C}) / \text{HDL-C}$$

Cílové hodnoty: 1 - 4,5

Hodnoty mezi 4 - 5 tvoří tzv. šedou zónu

Hodnoty nad 5 jsou výrazně patologické

Podmínka platnosti výpočtu: cholesterol > 0,8 mmol/l ; HDL cholesterol > 0 mmol/l

$$\text{Poměr LDL / HDL} = \text{LDL-C} / \text{HDL-C}$$

Cílové hodnoty: 1 - 3 (v podstatě doplněk, koreluje s Klimovem)

Poměr TG / HDL = triacylglyceroly / HDL-C

Cílové hodnoty: 0,5 - 2,5 (nový index, nepřináší nové informace)

Poměr apo A1 / apo B = apolipoprotein A1 / apolipoprotein B

Cílové hodnoty: 1,4 - 1,6 (platí obecná zásada - čím vyšší hodnota poměru, tím lepší); někdy se používá tento poměr opačný, pak platí i opačné hodnocení

Doplňěk:

Body Mass Index (BMI) = hmotnost [kg] / povrch těla [m²]

Norma hodnot: BMI > 25 nadváha, BMI > 30 obezita

Nověji: muži BMI > 28 obezita, ženy BMI > 27 obezita

Poznámka: V textu jsou uvedeny "cílové hodnoty" místo obvyklých "referenčních hodnot". Jedná se o to, že uvedené hodnoty jsou skutečně cílové, kterých je záhodno dosáhnout, kdežto "referenční hodnoty" v populaci jsou vyšší, což ovšem neznamená, že je vše v pořádku, ba právě naopak.

Dyslipoproteinemie (DLP)

Poruchy metabolismu lipidů, *dyslipoproteinemie*, patří mezi nejčastěji se vyskytující metabolické poruchy v populaci. Jsou jednou z příčin kardiovaskulárních onemocnění, především ischemické choroby srdeční.

Dyslipoproteinemie je charakterizovaná nejčastěji zvýšenou hladinou cholesterolu a/nebo triacylglycerolů a/nebo zvýšením či snížením koncentrace HDL cholesterolu.

Zvýšení hladiny LDL cholesterolu a triacylglycerolů a snížená hladina HDL cholesterolu jsou nezávislými rizikovými faktory pro vznik ischemické choroby srdeční.

Obecně platí, že pro prevenci ischemické choroby srdeční je žádoucí, aby byla hladina

- celkového cholesterolu < 5,0 mmol/l
- LDL cholesterolu < 3,0 mmol/l
- triacylglycerolů < 2,0 mmol/l
- HDL cholesterolu > 1,0 mmol/l a
- poměr cholesterol/HDL-C < 5

Poznámka: Ve skutečnosti jsou průměrné hodnoty v české populaci jiné - průměrné hodnoty cholesterolu jsou u mužů cca 5,9 mmol/l a u žen cca 5,8 mmol/l a koncentrace LDL zhruba 3,8 mmol/l u mužů a 3,7 mmol/l u žen.

Dyslipoproteinemie představuje celou řadu poruch metabolismu lipidů, které mohou mít mnoho příčin. Na jejím vzniku se prakticky vždy podílí nejméně dva faktory – genetické a zevního prostředí (kouření, fyzická inaktivita, strava), viz obrázek na následující straně.

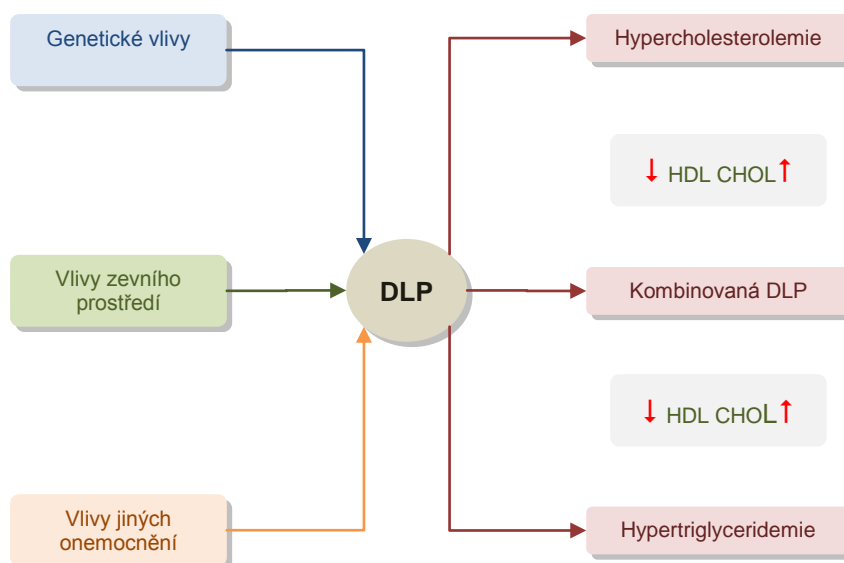
Dyslipoproteinemie může být

1. *vrozená* – je popsáno několik desítek poruch v metabolismu lipidů; v ČR asi 2% populace s touto poruchou
2. *sekundární* – rozvíjí se často účinkem jiných onemocnění (endokrinní, diabetes mellitus, onemocnění jater, ledvin, (infekční onemocnění, obezita), ale i při fyziologických stavech (těhotenství), také účinkem léků a toxinů (i alkoholu)

Jak vyplývá z předchozího textu, dyslipoproteinemie jsou především *hyperlipidémie* (*hypolipidémie* jsou vzácné), pro které se používá tzv. *terapeutická klasifikace*:

- Hypercholesterolémie (též izolovaná hypercholesterolémie): izolované zvýšení celkového cholesterolu, převážně v LDL
- Kombinovaná hyperlipidémie: současné zvýšení cholesterolu i triacylglycerolů
- Hypertriacylglycerolémie=hypertriglyceridemie (též izolovaná hypertriacylglycerolémie případně izolovaná hypertriglyceridémie): izolované zvýšení triacylglycerolů

Mechanismus rozvoje DLP



Základním laboratorním vyšetřením je *stanovení hladin celkového cholesterolu a triacylglycerolů*

Pro přesnější rozlišení poruchy se stanovují dále hladiny

- cholesterolu v HDL a v LDL (HDL-C a LDL-C,) apo A-I a apo B 100 ev. další apoproteiny
- případně se provádí elektroforéza lipoproteinů
- ev. další specializovaná vyšetření krevních lipidů

Podmínky a provedení:

Pacient před odběrem krve má být lačný po dobu 12 – 14 hodin, předchozí 2 – 3 dny má být vynechán alkohol. Před vlastním odběrem je nutná poloha v klidu v sedě po dobu nejméně 10 minut.

Vyšetření nemá být prováděno, když pacient

- nedodržel 2 týdny před odběrem krve svůj běžný životní styl
- nedávno proběhlo nebo je přítomno akutní či subakutní onemocnění
- je dekompenzovaný *diabetes mellitus*
- pacientka je těhotná nebo je v období do 1/2 roku po porodu.

Vyšetření u pacienta dosud neléčeného na dyslipoproteinémie musí být zopakováno v období 1 – 8 týdnů v téže laboratoři a pacient během této doby nesmí změnit své stravovací návyky a hmotnost.

Vzhledem k závažnosti dopadů je sledování poruch metabolismu lipidů velmi důležité a je žádoucí, aby příslušná laboratoř dodávala relevantní výsledky analýz.

Specializovaná vyšetření krevních lipidů

Dostupná pouze na několika specializovaných pracovištích

- *Vyšetření DNA* metodami molekulární biologie (defekt genu pro apo B 100 a defekt genu pro LDL receptor) pro upřesnění diagnostiky familiární hypercholesterolemie
- *Vyšetření apo E* (na *izoformy* E2, E3, E4) u dysbetalipoproteinemie
- *Vyšetření defektu lipoproteinové lipázy, jaterní lipázy, apo CII, LCAT, CETP* pro potřeby diagnostiky některých vzácných poruch metabolismu lipidů
- *Vyšetření funkční aktivity LDL receptorů* (stupeň postižení LDL receptorů) u nemocných s familiární hypercholesterolemií

Ateroskleróza

Klíčovou úlohu v ateroskleróze hraje *zánět*. Na rozdíl od skutečné infekce, kde zánět pomáhá odrazit invazi mikroorganismů, v tomto případě působí škodlivě (podobně jako např. u revmatoidní artritidy a jiných chorob zánětlivého původu).

Souhrn

- Ateroskleróza = nebezpečné hromadění tukovitých depozit (plátů) v tepnách. Tento děj je podporován zánětem.
- Zánět je i příčinou toho, že některé pláty pukají: na povrchu rozpadlých plátů dochází k torbě krevních sraženin, které mohou artérie ucpávat a vést tak k srdečnímu infarktu nebo mozkové mrtvici
- Nadbytek LDL může ve stěnách tepen spouštět zánětlivou reakci. Tlumení této reakce léky je podstatou současné léčby aterosklerózy. Současně se hledají cesty, jak zabránit zánětu jiným způsobem
- Kromě stanovení cholesterolu se hledají další testy popisující stav aterosklerózy (např. stanovení hladiny CRP)

Vznik plátu v cévní stěně

Tukovitá depozita čili pláty vznikají v cévní stěně. Cévní stěnu tvoří tři vrstvy:

- *Intima*, která je tvořena především endotelovými buňkami vystylajícími cévy. Tyto buňky jsou uloženy na tenké vrstvě mezibuněčné hmoty (matrix) řídkého vaziva protkaného tu a tam málo diferencovanými elementy hladkého svalstva (produkují matrix)
- *Media*, obsahuje zejména buňky hladké svaloviny
- *Adventia*, což je vnější vrstva cévy.

Při normálních koncentracích LDL-cholesterolu v krvi, může LDL-cholesterol volně přecházet do intimy i z ní volně odcházet. Je-li LDL-cholesterolu v krvi nadbytek, začne se v mezibuněčné hmotě intimy hromadit. Lipidy v LDL částici postupně začnou podléhat oxidaci, mění se jejich struktura. Současně dochází ke glykosylaci bílkovinné složky LDL (významné zejména u diabetiků). Buňky cévní stěny vnímají tyto změny jako *podnět k aktivaci obranného systému organismu*, takže postupně dochází k těmto dějům:

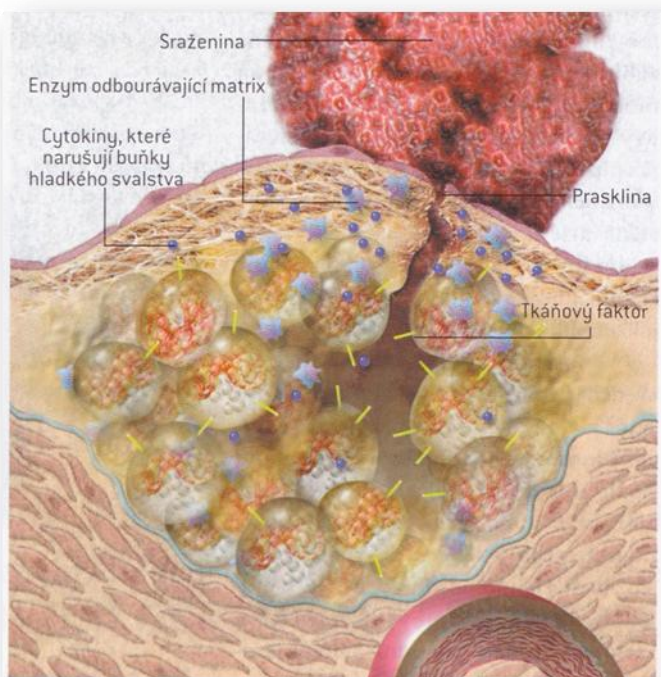
- Na svém povrchu obráceném do krevního řečiště začnou buňky cévní stěny vystavovat *adhezivní molekuly*, které ulpívají na *monocytech*. Díky tomu monocyty vypadávají z krevního proudu, koulejí se po vnitřním povrchu cévy, až přilnou k arteriální stěně.
- Endotelové buňky a elementy hladkého svalstva intimy začnou produkovat látky zvané *chemokiny*, které přitahují monocyty a způsobí, že monocyty začnou pronikat do intimy
- Chemokiny a ostatní látky vznikající v endotelu v buňkách hladkého svalstva přimějí monocyty k dělení a *diferenciaci v aktivní makrofágy*. Makrofágy se na svém povrchu vybaví speciálními

receptory a s jejich pomocí začnou čistit cévní stěnu a pohlcují pozměněné částice LDL. Výsledkem je makrofág přeplněný tukovými kapénkami – *pěnová buňka*.

- Působením adhezivních molekul a chemokinů pronikají do intimy i *T-lymfocyty*, které uvolňují *cytokiny* (přenášejí signál mezi buňkami imunitního systému a organizují jejich činnost), jež *posilují zánětlivou reakci tepenné stěny*.
- Kombinací pěnových buněk s menším počtem T-lymfocytů vznikají tzv. *tukové proužky*, předchůdci komplexních plátů, které posléze deformují artérie.
- Zánětlivé molekuly mohou iniciovat další růst plátu a *utváření vláknité čapky* nad lipidovým jádrem. V podstatě se jedná o hojivý proces. Buňky hladké svaloviny medie migrují na povrch intimy, kde se množí a produkují tuhou vláknitou (kolagenovou) matrix, která drží buňky pohromadě. Čapka zvětšuje plát, ale současně ho bezpečně odděluje od krve.

Prasknutí plátu

- Zánětlivé látky vylučované pěnovými buňkami mohou zeslabit čapku natrávením molekul matrix a ohrožením buněk hladké svaloviny, které potom nejsou schopny čapku opravit. Na zánětlivých procesech uvnitř artérií se mohou podílet i některé viry a bakterie (herpetické viry, *Chlamydia pneumoniae*), snad i vzdálená infekce. Narušení plátu vlivem zánětu je proces velmi rychlý, trvá nejdéle dva dny.
- Pěnové buňky mohou na svém povrchu vystavit *tkáňový faktor*, který je mocným *iniciátorem srážení*. Děje se tak např. působením T-buněk (na plátu) na makrofágy, které pak vytvářejí vysoké hladiny tohoto faktoru. Při případném prasknutí plátu dojde k tvorbě sraženiny (trombu), která může zastavit tok krve v artérii a způsobit infarkt nebo mrtvici.



Markerem nestability aterogenního plátu je především *MPO* – *myeloperoxidáza*, lysozomální enzym ze skupiny peroxidáz, přítomný v primárních (azurofilních) granulích leukocytů (podrobnosti viz např. [zde](#)).

Kladná úloha HDL lipoproteinů v ateroskleróze

- Brání oxidaci LDL, protože mohou přepravovat antioxidantní enzymy schopné odbourávat oxidované lipidy. Tím se potlačuje zánět.
- Dopravují cholesterol do jater za účelem odstranění nebo recyklace.

Poznámky

Pouze asi 15% infarktů je způsobeno ucpáním cévy plátem. V ostatních případech rostou pláty spíše dovnitř cévní stěny a příčinou infarktu je vznik trombu popsáný výš v textu. Potlačení zánětu např. aspirinem má kladný vliv na potlačení rizika vzniku AIM. Hodnota CRP může napovídat o probíhajícím zánětu v organismu a o výši rizika AIM i při normální hladině cholesterolu.

Pláty, které vyčnívají do tepenného lumen způsobují anginu pectoris, tj. pocity tísně, bolesti nebo tlaku, obvykle pod hrudní kostí, zvl. při zvýšených nárocích na dodávku krve (námaha, stres). Pláty, které nevyčnívají do prostoru cévy, ale jsou uvnitř stěny, jsou při prasknutí příčinou nečekaného infarktu, bez předchozích varování (jako je tomu např. u anginy pectoris). Dále jsou příčinou toho, že léčebné postupy zaměřené na rozšíření cévního průsvitu (balónová angioplastika, zasouvání drátěných klecových stentů) nebo

chirurgicky vytvořený bypass sice omezí bolesti na hrudníku, ale často nezabrání dalšímu infarktu. Ošetřené arterie se často brzy znovu ucpávají – zřejmě následkem silného zánětu, který může vzplanout po léčebném zákroku.

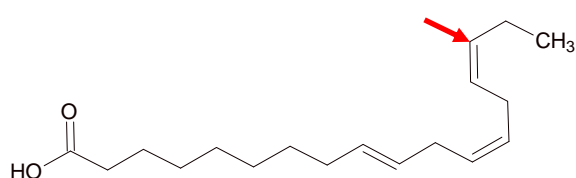
Peter Libby, Ateroskleróza: Nový pohled, Scientific American, české vydání, květen 2002 str. 29 - 37

Omega-3 a omega-6 polyenové mastné kyseliny

Na závěr ještě několik slov o určitých nenasycených mastných kyselinách, diskutovných zvláště v souvislosti s předchozím tématem. Jedná se o tzv. ω -3 (naboli n -3) a ω -6 (neboli n -6) nenasycené mastné kyseliny.

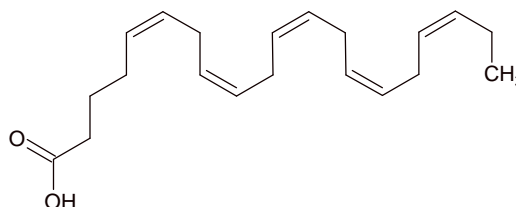
Omega-3-nenasycené mastné kyseliny (n -3 kyseliny)

mají nejvzdálenější dvojnou vazbu na třetím uhlíku od koncové (tj. „omega“) methylové skupiny. Vyskytují se v tuku mořských živočichů a některých rostlinných olejích. Tyto mastné kyseliny mohou modulovat složení leukotrienů (hormony lipidové povahy odvozené od kyseliny arachidonové, se třemi dvojnými vazbami, stimulují uvolňování prostaglandinů), ovlivňovat syntézu prostaglandinů, inhibovat agregaci destiček a zvyšovat poměr HD k LD lipoproteinům, zatímco obecná hladina lipidů (zvláště triglyceridů) klesá. Existují důkazy, že mohou inhibovat některé typy rakoviny.



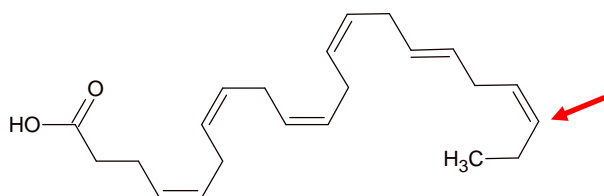
Kyselina α -linolenová

(Kyselina all-cis-oktadeka-9,12,15-trienová; esenciální)



EPA (EicosaPentaenoicAcid)

(Kyselina all-cis-eikosa-5,8,11,14,17-pentaenová)



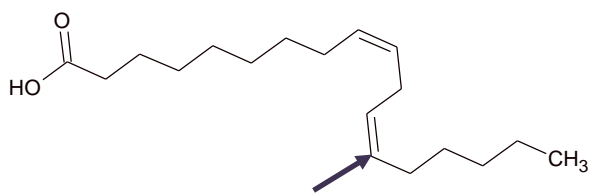
DHA (DocosaHexaenicAcid)

(Kyselina all-cis-dokosa-4,7,10, 13, 16, 19-hexaenová)

Označuje 3. uhlík od „omega“ konce

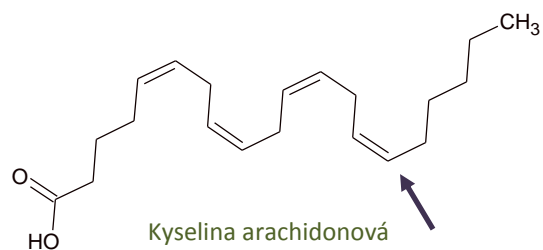
Omega-6 nenasycené mastné kyseliny (n -6 kyseliny)

mají nejvzdálenější dvojnou vazbu na šestém uhlíku od koncové methylové skupiny. Vyskytují se převážně v rostlinných olejích a olejích ze semen. Některé lékařské výzkumy svědčí o tom, že vysoký poměr hladin n -6 mastných kyselin vzhledem k n -3 mastným kyselinám může zvyšovat pravděpodobnost výskytu různých chorob a depresí (nepříznivé působení při ateroskleróze, astma, artritidě, céních chorobách, trombose, imunitně-zánětlivých onemocněních, při růstu nádorů). Vedou se diskuse o tom, jaký poměr těchto kyselin je „ideální“. Faktem je, že s postupem času se v lidském jídelníčku prosazují více n -6 mastné kyseliny, na úkor kyselin n -3. Některé názory tvrdí, že není třeba se starat o hladinu n -6 kyselin, ale stačí zajistit vysokou koncentraci n -3 kyselin. Z pozitivních účinků se uvádí např. působení tkáňové kyseliny arachidonové, která konvertuje na n -6 prostaglandiny a n -6 leukotrienové hormony a tím vytváří značný počet cílů na které se mohou zaměřit účinky léčiv a takto se minimalizují jinak nepříznivé účinky n -6 látek.



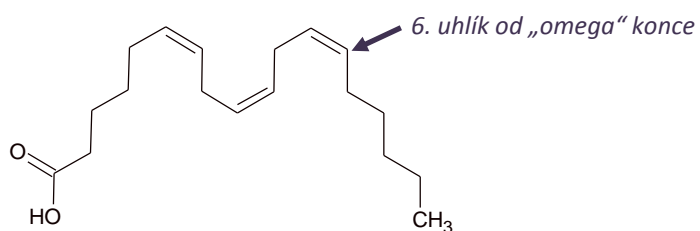
Kyselina linolová

(Kyselina cis,cis-oktadeka-9,12-dienová)

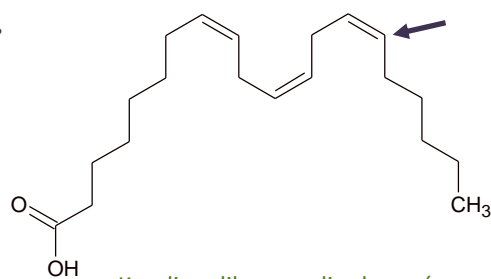


Kyselina arachidonová

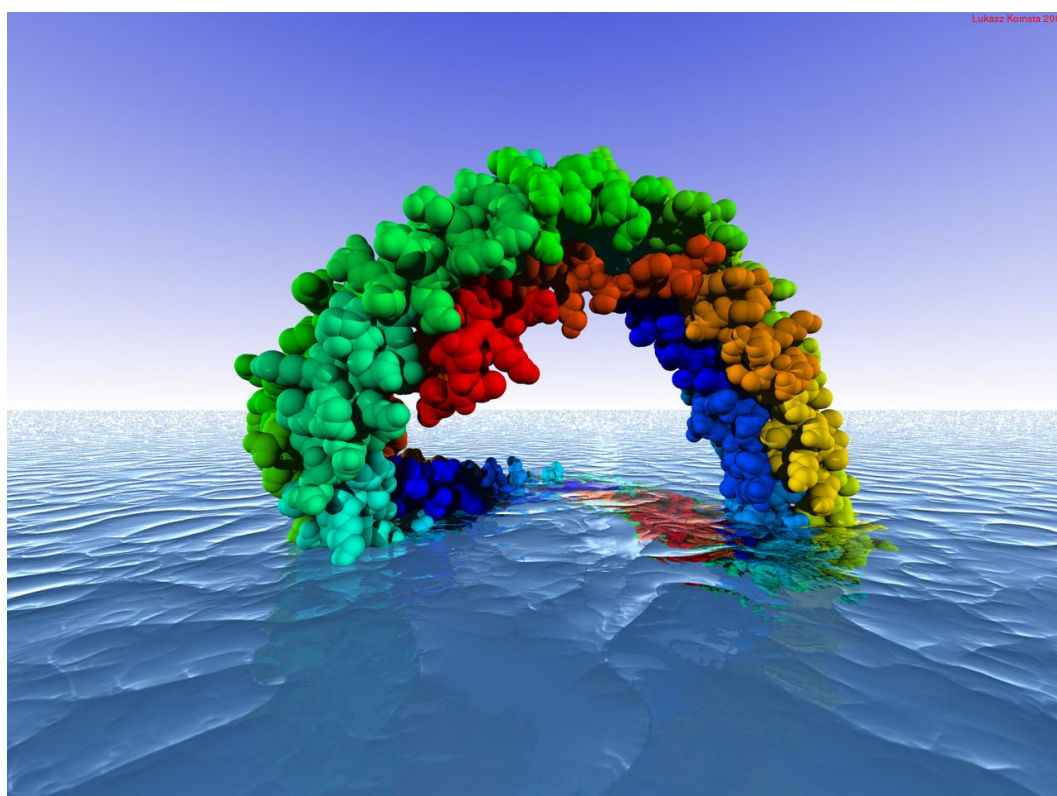
(Kyselina all-cis-eikosa-5, 8,11,14-tetraenová)

Kyselina γ -linolenová

(Kyselina all-cis-oktadeka-6,9,12-trienová)

Kyselina dihomo γ -linolenová

(Kyselina all-cis-eikosa-8,11,14-trienová)



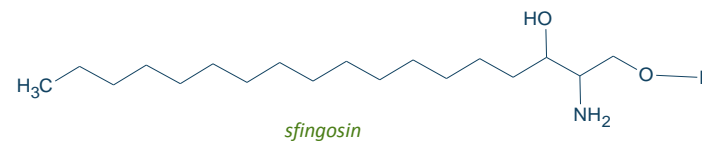
Přehled lipidů

STAVEBNÍ SLOŽKY NEBO PRODUKTY METABOLISMU LIPIDŮ	ISOPRENOIDNÍ LIPIDY	SLOŽITÉ LIPIDY			NEUTRÁLNÍ TUKY	VOSKY		
		Estery mastných kyselin						
		Glykolipidy	Fosfolipidy					
		Sfingolipidy		Glycerolipidy				
Uhlovodíky Vyšší alkoholy Vyšší aldehydy Mastné kyseliny Prostaglandiny	Steroidy Karotenoidy	Estery cholesterolu	Cerebrosidy Sulfatidy Ceramidooligosacharidy Gangliosidy	Sfingomyeliny	Fosfatidylcholin Fosfatidyletanolaminy Fosfatidylseriny Fosfatidylinositoly Fosfatidylglyceroly Estery glyceryleteronů (plasmalogeny)	Monoacylglyceroly Diacylglyceroly Triacylglyceroly	Diolové lipidy	Metyl a etylestery vyšších alkoholů s vyššími mastnými kyselinami

Poznámky – výklad některých pojmů:

Isoprenoídní – základem této skupiny lipidů je isopren (jako výchozí složka syntézy)
 Glyko- v lipidech je obsažena glycidová složka
 Fosfo – v lipidech je obsažen fosforečnan (fosfát)
 Sfingo – v lipidech je obsažen alkohol sfingosin
 Glycero – v lipidech je obsažen alkohol glycerol

Podle Šantavý a spolupracovníci, Klinická biochemie



OBSAH:

Lipidy.....	1
Hlavní „dopravní“ prostředky lipidů v plazmě jsou pro:.....	1
Podrobný popis apolipoproteinů, jejich výskyt, místo syntézy, funkce a vlastnosti.....	3
Tři hlavní funkce apolipoproteinů.....	3
Jednotlivé apoproteiny.....	3
Apo B.....	3
Apo C.....	4
Apo E.....	4
Apoprotein (a).....	4
Lipoproteiny.....	5
Složení jednotlivých tříd lipoproteinů.....	5
Další pohled na některé vlastnosti lipoproteinů.....	5
Chylomikrony.....	5
VLDL.....	6
IDL.....	6
LDL.....	6
HDL.....	6
Schématické znázornění lipoproteinů.....	6
Enzymy a transportní proteiny v lipoproteinovém metabolismu.....	7
Chylomikrony.....	7
VLDL a LDL.....	8
Zjednodušené schéma metabolismu lipoproteinů.....	9
HDL a reverzní transport cholesterolu.....	9
Zjednodušené schéma metabolismu lipoproteinů.....	11
Lipoprotein(a).....	11
Úloha lipoproteinových receptorů.....	12
Ultracentrifugace.....	12
Elektroforetické dělení.....	12
Lipoprotein (a).....	13
Cholesterol.....	14
Náznak syntézy cholesterolu v organismu.....	14
Neenzymové metody – principy.....	14
Referenční metoda.....	15
Principy enzymových metod stanovení cholesterolu.....	15
HDL-cholesterol.....	16
Referenční metody.....	17
LDL-cholesterol.....	19
Výpočet koncentrace LDL-C.....	19
Precipitace sulfatovanými polyanionty.....	19
Imunoseparační metoda.....	19
Elektroforetické stanovení LDL-C.....	19
Vysokoučinná gelová chromatografie (HPGC).....	20
Ultracentrifugační separace lipoproteinů.....	20
Referenční metoda.....	20
Triacylglyceroly.....	21
Neenzymové metody – princip extrakční metody.....	21
Enzymové metody – princip.....	22
Klinické poznámky.....	22
Dyslipoproteinemie může být.....	24
Mechanismus rozvoje DLP.....	25
Kladná úloha HDL lipoproteinů v ateroskleróze.....	27
Omega-6 nenasycené mastné kyseliny (<i>n-6</i> kyseliny).....	28
Přehled lipidů.....	30
OBSAH:.....	31