

Lipidy

Úvod

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 (a často s obsahem dalších složek). 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 ve zmiňované tabulce mají z klinicko-biochemického hlediska význam především *masné kyseliny*, *triacylglyceroly/triglyceridy*, *cholesterol*, *fosfolipidy (fosfatidy)* a *sřingolipidy*, 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.

Význam lipidů je široký:

- 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*
- lipidy mají *izolační vlastnosti* (ochrana orgánů před mechanickým šokem, tepelná izolace, usnadňují tok elektronů podél nervových drah)

Změny ve spektru plazmatických lipidů, ať jsou změnami primárními (na genetickém podkladu), či změnami sekundárními (způsobené chorobami, nezdravým životním stylem či jinými činiteli), znamenají vždy pro jejich nositele větší či menší riziko onemocnění vážnými chorobami, často s fatálními důsledky. Řeč je zejména o ateroskleróze, ischemické chorobě srdeční a infarktu myokardu. Protože diagnóza, terapie a monitorování těchto chorob se ze značné míry opírá o laboratorní nálezy, je pro laboratorní pracovníky důležité seznámit se základní chemií lipidů, s principy jejich metabolismu a zejména s metodami jejich laboratorního stanovení. Něco z těchto požadavků již splnila obecná biochemie, to ostatní, alespoň ve stručnosti, je uvedeno v dalším textu.

Všechny plazmatické lipidy se vážou na bílkoviny. Vazbou na bílkoviny se stanou lipidy rozpustnými ve vodném prostředí a mohou být transportovány v extracelulární tekutině.

Polární lipidy (neesterifikované mastné kyseliny, lyzolecitin) jsou transportovány albuminem, některé specifickým transportním proteinem (α -globulin vázající retinol, *RBP, retinol binding protein*).

Nepolární lipidy (triacylglyceroly, estery cholesterolu) jsou transportovány makromolekulárními útvary, *lipoproteiny*, ve kterých jsou vázány na bílkoviny zvané *apolipoproteiny*.

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

Rozlišuje se pět základních typů (tříd) lipoproteinů, které se liší jak svým složením, tak biologickou funkcí. Z hlediska klinického se liší např. svou schopností zasahovat do procesu aterosklerózy (*aterogenitou*).

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)

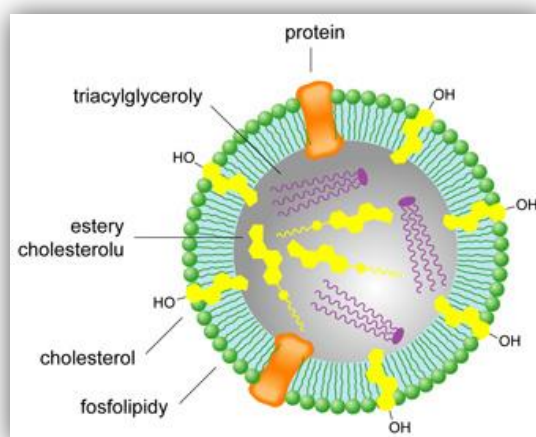
Poznámka I: ultracentrifugací lze rozlišit ještě CL remnants (remnantní čili zbytková/é chylomikra/chylomikrony)

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

Stavba lipoproteinů má v podstatě ve všech třídách stejnou strukturu – v jádru se nacházejí nepolární lipidy (triacylglyceroly, estery cholesterolu) a jádro je obklopeno jednoduchou vrstvou polárních lipidů (fosfolipidy, volný cholesterol) a bílkovin, apolipoproteinů (viz obrázek vpravo; srovnajte též se schématem stavby chylomikronu na [str. 5](#) a schématy stavby LDL a HDL na [str. 7](#))

Některé lipoproteiny jsou uspořádány ve dvojvrstvě, ve formě diskoidní (viz např. *nascentní HDL*) nebo vezikulární (váčkovité).

Schématické znázornění lipoproteinů



Hlavní „dopravní“ prostředky lipidů v plazmě jsou pro

<i>volné mastné kyseliny</i>	albumin
<i>triacylglyceroly exogenní</i> (z potravy)	chylomikrony
<i>triacylglyceroly endogenní</i> (z vlastní syntézy)	VLDL
<i>cholesterol</i>	chylomikrony, VLDL, LDL, HDL

Apolipoproteiny

Vlastnosti lipoproteinů jsou převážně určeny jejich bílkovinnou částí, apolipoproteiny. Apolipoproteiny jsou složeny buď z jednotlivých polypeptidových řetězců, nebo z několika neidentických polypeptidů.

Systém a nomenklatura do problematiky apolipoproteinů zavedl v roce 1971 *Petar Alaupovic, Ph.D.*, vědec původem z Jugoslávie, dnes žijící v Oklahoma City, člen mnoha významných vědeckých institucí a nositel mnoha vědeckých ocenění.

Tato, tzv. *abecední nomenklatura*, třídí apolipoproteiny do skupin (rodin), které se označují velkými písmeny abecedy: *A, B, C, D, E, F, G* (*apoA, apoB...*), polypeptidové řetězce se označují římskými číslicemi (*A-I, A-II*) a případné izoformy apolipoproteinů arabskými číslicemi 1, 2..). V rutinní biochemické laboratorní praxi se stanovují zejména apolipoproteiny typu *A* a *B*.

Tabulka na následující straně ukazuje některé základní vlastnosti apolipoproteinů. Rovněž apolipoproteiny vykazují, jako jiné bílkoviny, polymorfismus, což v některých případech má závažné dopady na metabolismus lipidů a zdravotní stav jedince.

Hlavní funkcí apolipoproteinů je *regulace metabolismu plazmatických lipidů a stabilizace lipidové emulze*, což je zajištěno zejména tím, že apolipoproteiny

- jsou strukturálními částicemi 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 apoloproteinu na lipoproteinový receptor je prvním krokem k využití lipidů buňkou.
- (některé: apoA-I, C-I a C-II) jsou *kořfaktory lipolytických enzymů* (lecitin:cholesterol acyltransferázy = LCAT, lipoproteinové lipázy = LPL) a zúčastňují se tak přímo lipoproteinového metabolismu.



Petar Alaupovic, Ph.D.

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

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

Apolipoprotein	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	

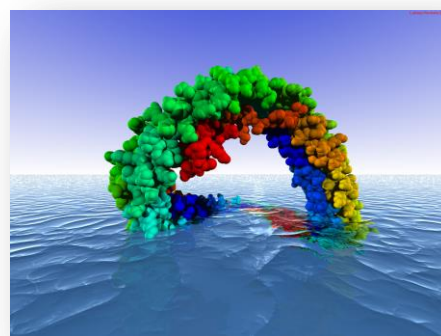
Základní charakteristiky jednotlivých apolipoproteinů

ApoA-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 *reversní cholesterolový transport*. Viz obrázek na str. 8. Je to hlavní antiaterogenní a antioxidační faktor v HDL.

ApoA-II

Tvoří se podobně jako apoA-I v tenkém střevě a v játrech. Je to druhý nejznámější apolipoprotein třídy HDL. Bylo zjištěno, že čím vyšší je hladina apoA-II v plazmě, tím nižší je riziko rozvoje kardiovaskulární choroby. ApoA-II zřejmě přispívá ke zdárnému průběhu reversního transportu cholesterolu i k redukci LDL oxidace.



Umělecké ztvárnění molekuly Apolipoproteinu AI (Apo AI ve vodě)

<http://www.komsta.net/chemwalls/apolipo2-1280.jpg>

ApoA-IV

ApoA-IV se tvoří v tenkém střevě (i když syntéza probíhá i v hypotalamu) a syntéza ve střevě je podporována aktivní absorpcí lipidů. Nalézá se především ve vazbě s chylomikrony, ale také v malých HDL a ve frakci séra neobsahující lipoproteiny. Vykazuje četné aktivity vzhledem k lipidům a lipoproteinovému metabolismu. Ve chvíli, kdy HDL absorbují produkty lipolýzy lipoproteinů bohatých na triacylglyceroly, oddělí se apoA-IV od HDL a mohou se vrátit do lymfy. ApoA-IV se rovněž účastní reverzního cholesterolového transportu jako aktivátor LCAT. Vykazuje antioxidační, protizánětlivé a antisklerotické účinky. Střevní i hypotalamický apoA-IV nacházející se v cirkulaci jsou anorexigenní (vyvolávající nechutenství) peptidy, které, alespoň částečně, potlačují chuť na tučná jídla.

ApoB

ApoB je hlavní komponentou LDL a IDL a je rovněž důležitou komponentou VLDL a chylomikronů.

Vyskytuje se ve dvou formách

- **apoB100**, 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 **apoB nevyměňuje** během metabolismu mezi jednotlivými lipoproteiny
- **apoB48**, která se nachází v chylomikronech a tvoří se v játrech jako N-terminální polovina apoB100.

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

ApoC

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 apoC do těchto částic a k jejich opětovnému uvolnění po hydrolyze 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.

ApoE

Tvoří se převážně v játrech a je distribuován rovnoměrně mezi VLDL a HDL částice. Podobně jako u apoC dochází i u apoE 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 apoB. Rovněž apoE vykazuje antisklerotickou aktivitu, kterou má na svědomí zejména jeho účinkování při (receptorem zprostředkované) utilizaci LDL játry. Toto jaterní zpracování LDL vede ke snížení hypercholesterolemie, ale apoE brzdí aterosklerózu i bez ovlivnění hypercholesterolemie. 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

Apolipoprotein (a)

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

V populaci se vyskytuje více jak 30 izoform apo(a) lišících se velikostí. Podle jejich relativní elektroforetické pohyblivosti vzhledem k apoB, jsou nejčtenější typy označeny F (*fast, rychlý*), B (*stejně rychlé jako apoB*) 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 uvedených podobností 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 zpětínásobuje 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 (apoB100)*. 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. V současné době se od stanovení apoA i apoB v rutinní praxi upouští a provádí se spíše ve specializovaných laboratorních provozech navázaných na příslušné odborníky.

Lipoproteiny

Již v úvodu kapitoly byla naznačena (víceméně jednotná) stavba jednotlivých tříd lipoproteinů. Následující tabulky přehledně uvádějí průměrné složení jednotlivých lipoproteinů a jejich vlastnosti.

Poznámka: Co se obecně týče syntézy lipoproteinů, která probíhá v játrech a v enterocytech tenkého střeva, je důležité si uvědomit, že žádný lipoprotein nemůže být syntetizován bez přítomnosti cholesterolu, který je základní součástí povrchové struktury všech lipoproteinů

Složení jednotlivých tříd lipoproteinů

	CHYLOMIKRA	VLDL	LDL	HDL
Lipoprotein / apoprotein	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
<i>HDL₁ (HDL_C)</i>	1,055 - 1,085			
<i>HDL₂</i>	1,063 – 1,120			
<i>HDL₃</i>	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.

Jednotlivé lipoproteiny a jejich metabolismus

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.

Je důležité připomenout si co již bylo psáno výše, že regulace metabolismu plazmatických lipidů je hlavní funkcí apoproteinů, tzn. bílkovinné složky lipoproteinu.

V metabolismu lipoproteinů se účastní některé důležité enzymy a transportní proteiny, jejichž narušení může vést k patologickým stavům. Jejich přehled a základní funkce jsou uvedeny v následující tabulce.

Enzymy a transportní proteiny v lipoproteinovém metabolismu

Enzym/protein	Kofaktor	Funkce
Postheparinové lipázy (PHL) Lipoproteinová lipáza (LPL)	ApoC-II	Hydrolyza exogenních triacylglycerolů v chylomikrech.
Jaterní triacylglycerolová lipáza (HTGL) Fosfolipázy	Žádný kofaktor	Hydrolyza triacylglycerolů a fosfolipidů v IDL a HDL. Hydrolyza fosfolipidů, nejasná funkce v metabolismu lipoproteinů
Lecitin-cholesterol-acyltransferáza (LCAT)	ApoA-I (ApoA-IV, C-I, D)	Tvorba více jak 80% esterů cholesterolu z volného cholesterolu a lecitinu ^{*)} , konverze HDL ₃ na HDL ₂
Přenašečové proteiny Protein přenašející estery cholesterolu		Reaktant HDL/LCAT komplexu, výměna esterů cholesterolu z HDL za triacylglyceroly VLDL, výměna a přenos lipidů z jádra/core (částice)
Protein přenašející 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).

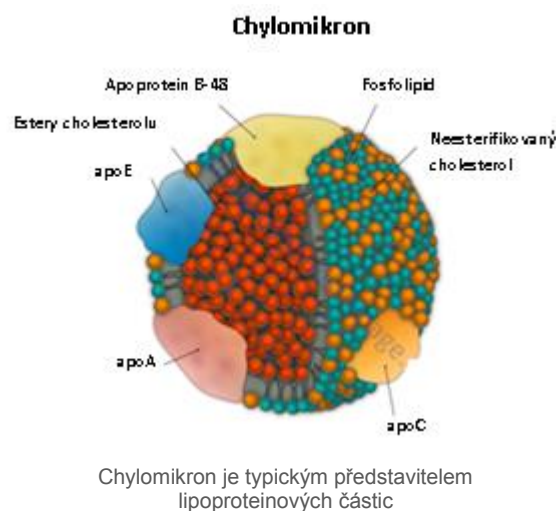
Chylomikrony

Jsou bohaté *triacylglyceroly* (přijaté potravou), které transportují. Z apoproteinů obsahují zejména apoproteiny A-I, A-II, A-IV a B48. ApoB48 se vyskytuje pouze v chylomikronech. Na séru stojícím přes noc při 4 °C tvoří chylomikrony krémovou vrstvu.

Metabolismus

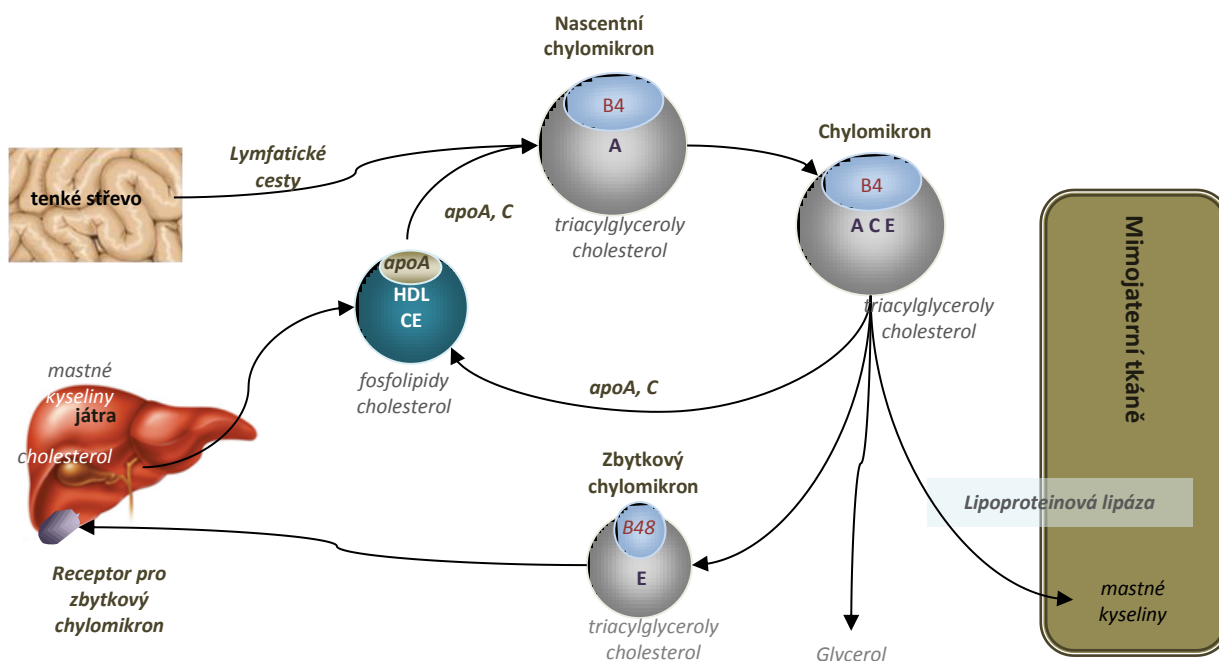
Tvoří se v tenkém střevě v buňkách střevní mukózy, především jako reakce na lipidy přijaté potravou. Syntéza neprobíhá kontinuálně a závisí na množství neutrálních tuků, které mají být absorbovány. Proteiny a fosfolipidy spolutvořící chylomikrony jsou syntetizovány v enterocytech. Kapacita syntézy je 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. Po vstupu do krve ztrácejí apoA-IV a A-I a naopak získávají apoC a apoE z HDL částic. ApoC-II aktivuje v přítomnosti fosfolipidů lipoproteinovou lipázu (LPL) v kapilární stěně, která hydrolyzuje většinu triacylglycerolů v jádru chylomikera.

Uvolněné mastné kyseliny jsou vycytávány zejména tukovou tkání a svalovými buňkami, glycerol je dopraven do jater a do ledvin, kde je přeměněn na meziprodukt metabolismu glycidů, dihydroxyaceton fosfát. Během odevzdávání mastných kyselin se povrchové komponenty (apoC, apoA-I a také určité množství volného cholesterolu a podstatná část fosfolipidů) stávají nadbytečnými a jsou uvolněny a převedeny do částic HDL. Ztráta apoC-II zabraňuje lipoproteinové lipáze v další degradaci chylomikronových zbytků. Chylomikronové zbytky, které obsahují zejména estery cholesterolu, apoE a apoB-48, jsou pak transportovány do jater, kde jsou degradovány. Aby mohly proniknout otvory mezi endoteliálními buňkami do perisinusoidálního prostoru (*Dissův prostor*,) musí být dostatečně malé. Zde jsou rozeznávány buď jaterními LDL receptory, které vyžadují apoE, nebo odklízecími/zbytkovými receptory



hepatocytů, které patří do rodiny proteinů příbuzným LDL receptorům (*LDL receptor-related protein, LRP*) a také rozpoznávají apoE.

Metabolismus chylomikronů



Poznámka: cholesterolem se rozumí volný i esterifikovaný cholesterol; A, C, E, B48 = apolipoproteiny; pod částicemi jsou uvedeny nejvíce zastoupené lipidy v těchto částicích

VLDL

Tvoří se v játrech a transportují většinu *triacylglycerolů* tvořených (endogenní) lipogenesou, k čemuž dochází při příjmu tuků a sacharidů překračujícím potřeby organismu. Triacylglyceroly jsou „zabaleny“ do VLDL částic a uvolněny do cirkulace, aby mohly být dopraveny do různých tkání (přednostně do tkáň svalové a tukové), kde jsou skladovány nebo použity k produkci energie (β -oxidace mastných kyselin). Obsahují trochu cholesterolu a jeho esterů, a apoproteiny apoB100, apoC-I, apoC-II, apoC-III a apoE. Nově vytvořené částice VLDL získávají apoproteiny C a apoE z cirkulujících částic HDL (srovnej výš u chylomikronů).

IDL

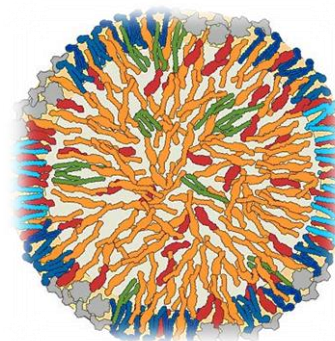
U zdravých jedinců se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích. Tvoří se při metabolismu VLDL (jsou produktem metabolismu VLDL). Poměr P/L je nekonstantní.

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 apoB molekulu),
- *malé husté* LDL (obsahují kolem 650 cholesterolových molekul na molekulu apoB) 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.



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/>

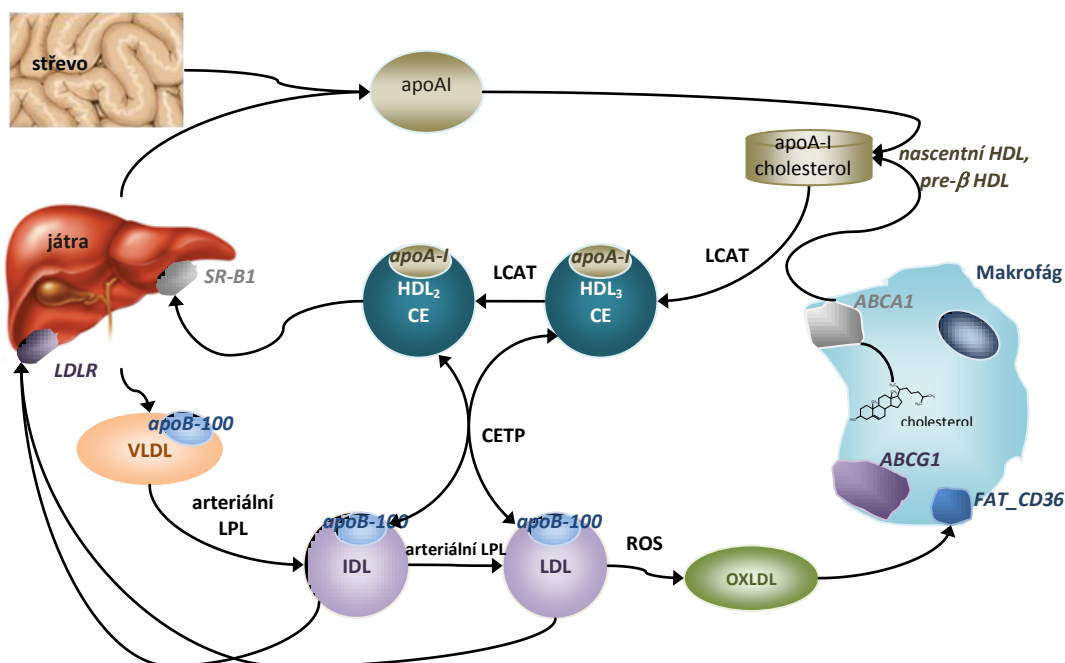
Bodová mutace genu produkujícího apoB100 má za následek značně sníženou schopnost vazby LDL na receptor. Vzhledem k tomu, že každá LDL částice obsahuje pouze jednu apoB100 molekulu, může tato mutace ovlivnit polovinu všech LDL částic. Tyto částice pak v krvi převládají, protože jsou degradovány mnohem pomaleji.

Malé částice LDL se vážou méně efektivně prostřednictvím *receptoru B100 E*, přežívají tedy v krevním oběhu déle, více podléhají změnám, a proto jsou více aterosogenní 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.

Inzulín a trijódtyronin (T3) zvyšují vazbu LDL na jaterní buňky, zatímco glukokortikoidy mají opačný efekt. Působení inzulínu a T3 na jaterní vazbu LDL může vysvětlit hypercholesterolemii a zvýšené riziko aterosklerózy, o nichž bylo prokázáno, že jsou spojeny s nekontrolovaným diabetem a hypotyreoidismem. Existuje i abnormální forma LDL zvaná lipoprotein-X (Lp-X), vyskytující se u pacientů s nedostatkem lecitin-cholesterol acyl transferázy (LCAT) či s cholestatickým jaterním onemocněním. V obou případech se nacházejí v cirkulaci i zvýšené hodnoty volného cholesterolu a fosfolipidů.

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

Detaily interakcí mezi HDL a LDL



LCAT = lecitin cholesterolová acyltransferáza; CETP = protein přenášející estery cholesterolu; ABCA1 = ASTP-binding cassette transport protein A1t; ABCG1 = ASTP-binding cassette transport protein G1t; ROS = reactive oxide speciments, tj. látky s reaktivním kyslíkem, např. kyslíkové ionty a peroxidy; LDLR = receptor pro LDL (apoB,E-receptor); FAT_CD36 = odklízeč receptor; SR-B1 = jaterní odklízeč receptor (bližší podrobnosti viz dále **Legenda**)

Legenda k obrázku

HDL se tvoří v játrech a ve střevu ve formě diskoidních struktur bohatých na proteiny, tvořených primárně z apoA-I. ApoA-I interaguje s přenašečem ABCA1 (tak, jak je na obrázku naznačeno pro makrofág) a extrahuje cholesterol z buněk. Cholesterol spojený s apoA-I je účinkem LCAT esterifikován. Tento proces vede k tvorbě částic HDL₃. Částice HDL₃ se postupně obohacují cholesterolem a (účinkem LCAT) estery cholesterolu. Dále během cesty interagují s IDL a LDL, což je zprostředkováno CETP, který vyměňuje estery cholesterolu v HDL za triacylglyceroly z LDL. Tak se změní HDL₃ na HDL₂. HDL může získávat cholesterol z buněk také interakcí s ABCG1. Tímto způsobem získává HDL z buněk přibližně 20% cholesterolu. Z oběhu je HDL vyjmut vazbou na jaterní scavenger/odklízeč receptor SR-B1. Cholesterolem bohaté IDL a LD se mohou vrátit do jater vazbou na receptor pro LDL (LDLR). Tvorba ROS vede k oxidaci lipidových složek LDL a tvorbě oxidovaných LDL (oxLDL), které jsou odstraňovány makrofágy prostřednictvím scavengerových/odklízeč receptorů, FAT/CG36.

Poznámka 1: ABCA1, ABCG1, patří do tzv. ABC rodiny, resp. superrodiny, transportérů/přenašečů, membránových proteinů, vyžadujících ke své činnosti energii z ATP. Obsahují oblast, na kterou se ATP váže. Hydrolýzou ATP získaná energie slouží k přenosu

různých molekul přes buněčné membrány. Dělí se do sedmi skupin, značených písmeny A – G a každý člen má ještě své pořadové číslo (např. ABCG1, ABC přenašeč rodiny G, pořadové číslo 1). Právě přenos cholesterolu z povrchu buněčné membrány do HDL částic zahrnuje činnost ABCG1.

Poznámka2: Makrofágy obsahují dva typy scavengerových receptorů (SR), a to makrofágový SR-I a makrofágový SR-II. Další dělení pak rozlišuje rodiny třídy A, B, mucinu podobné (mucin-like) receptory a endoteliální receptory. Po navázání LDL mohou být receptory buď buňkou pohlceny (receptorem zprostředkovaná endocytóza) nebo zůstanou na povrchu buňky a zajistí přenos LDL do buňky. Ve třídě B se nacházejí scavengerové receptory typu I (SR-BI) a CD36.

SR-BI protein je jaterní endogenní receptor pro HDL. Interakce HDLxSR-BI v nadledvině je mechanismem, který dodává cholesterol pro syntézu steroidních hormonů v této tkáni.

CD36 je také znám jako translokáza mastných kyselin (Fatty Acid Translocase, FAT), proto se často označuje jako FA/CD36. Je jedním z receptorů odpovědných za přijetí mastných kyselin buňkami i za absorpci oxidovaných LDL (oxLDL) makrofágy.

Naznačené scavengerové cesty nemohou být ani regulovány, ani nasyceny, jsou k máni vždy, když je aktivita mechanismů specifických receptorů omezena. Při zvýšené hodnotě LDL to nevyhnutelně vede k přesyčení scavengerových buněk cholesterolem, které degenerují na **pěnové buňky**, které hrají vedoucí roli v ateroskleróze. Na straně druhé, scavengerové receptory tím, že odstraňují modifikované LDL, chrání organismus od přesyčení lipoproteiny tohoto typu.

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.

HDL a reverzní transport cholesterolu

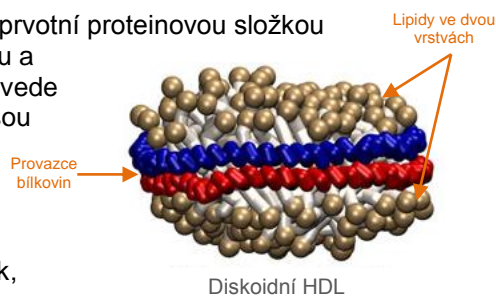
HDL představuje velmi heterogenní populaci lipoproteinů. Jednotlivé částice mají různou velikost, různý proteinový obsah a lipidovou skladbu a zřetelně se liší ve svých funkcích. Přitom neobsahují žádnou specifickou složku, která by zůstávala v částici v konstantním množství. Není proto divu, že není snadné vystopovat metabolické cesty HDL.

V cirkulujících částicích HDL se celkem nachází asi 75 různých proteinů, mnohé z nich mají enzymovou aktivitu. Vyskytují se zde např. glutathion peroxidáza 1 (CPx-1), paraoxonáza 1 (PON1), aktivací faktor trombocytů acetylhydroláza (PAF-AH, s lipoproteinem sdružená fosfolipáza A₂, Lp-PLA₂), lecitin:cholesterol acyltransferáza (LCAT) a transferový protein pro estery cholesterolu (CETP, *cholesterol ester transfer protein*). Významnou složkou HDL je i sfingosin-1-fosfát (S1P), který figuruje v mnoha fyziologicky důležitých metabolických cestách. HDL částice jsou nejvýznamnějším přenašečem S1P v krvi. Mnoho biologických účinků HDL je, alespoň částečně, ovlivňováno vazbou S1P na povrchové receptory buněk. Co se týče apoproteinů, primárními apolipoproteiny jsou apoA-I, ApoC-I, apoC-II a apoE, přičemž apoA-I je nejvíce zastoupeným proteinem, tvoří více jak 70% obsahu celkové proteinové hmotnosti.

Funkce HDL částic

- jednou z hlavních je získávání cholesterolu z periferních tkání a jeho transport zpět do jater, kde může být s konečnou platností přeměněn na žlučové kyseliny a vyloučen; této roli se říká *reverzní transport cholesterolu (RCT)* a představuje hlavní ateroprotektivní funkci této třídy lipoproteinů; tuto funkci dále posiluje skutečnost, že HDL částice vykazují, zejména díky přítomnosti výše jmenovaných enzymů a faktorů, také protizánětlivé, antioxidantní a vasodilatační účinky; nejmarkantnější ateroprotektivní účinky mají malé husté částice, označované jako HDL₃
- další důležitou funkcí HDL je fungovat jako cirkulující zásobárna apoC-I, apoC-II a apoE
- navíc vykazují HDL částice i vlastnosti antiapoptotické, antitrombotické a antiinfekční.

V játrech a v enterocytech tenkého střeva se tvoří apoA-I, který je prvotní proteinovou složkou HDL. ApoA-I nejprve vytváří částice téměř bez volného cholesterolu a jeho esterů. Postupný sběr lipidů a cholesterolu z periferních tkání vede k tvorbě *nascentního (nově vytvořeného) diskoidního HDL*: lipidy jsou uspořádány do dvou vrstev, obtočených (nejčastěji) dvěma provazci bílkovin, takže výsledná konstituce se v elektronovém mikroskopu jeví jako disk. Proto se nazývá *diskoidní HDL*.

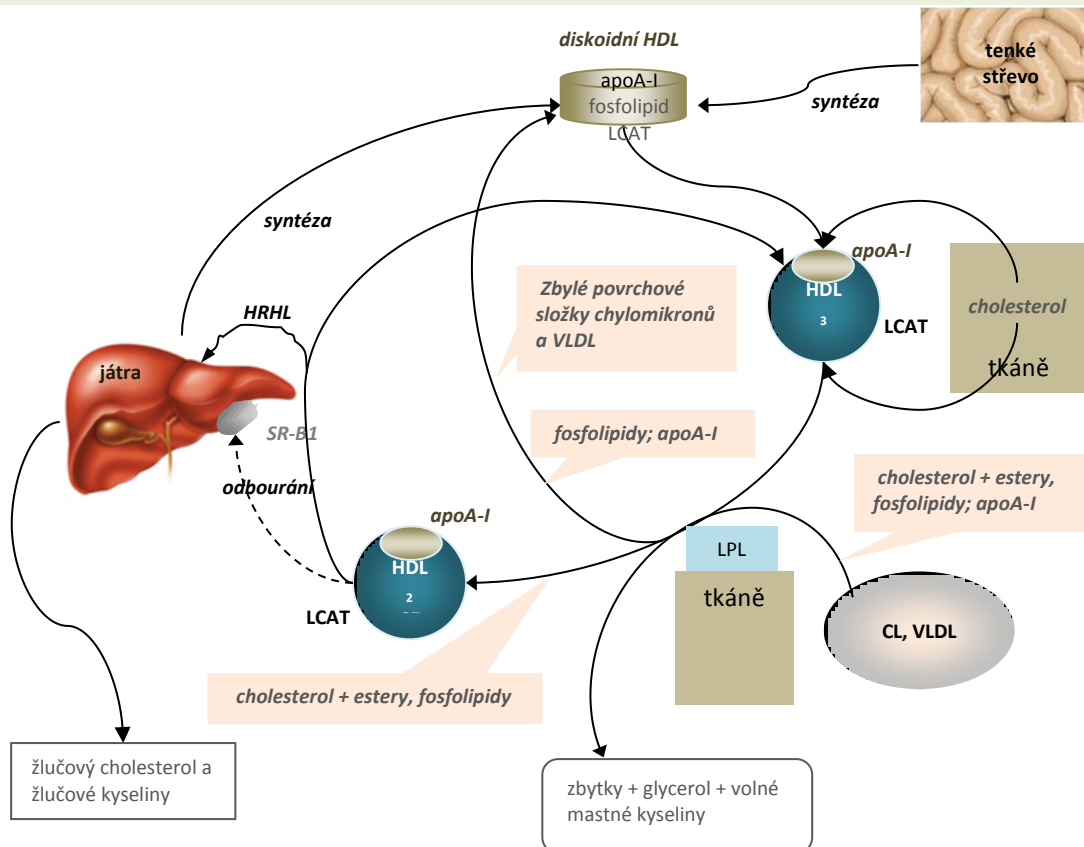


Při svém dalším účinkování se HDL chová jako podomní obchodník, který cestou sbírá volný cholesterol, upravuje ho (tvorba esterů) a uskladňuje, aby ho vzápětí vyměnil za triglyceridy, a přitom si také čile vyměňuje s ostatními lipoproteiny své proteinové složky, apolipoproteiny.

Částice nascentního HDL odebírají volný cholesterol z periferních buněk, z cévní stěny (primární mechanismus získávání cholesterolu z periferních tkání je přes interakci částic s makrofágy vzešlých z monocytů, v subendoteliálních prostorách tkání. Makrofágy vážou nascentní částice HDL, které primárně obsahují pouze apoA-I, interakcí s transportním proteinem ABCA1. V přenosu cholesterolu z makrofágů

prostřednictvím ABCA1 se angažuje apoA1. Tento přenos vede k tvorbě nascentních diskoidních lipoproteinových částic zvaných pre- β HDL. Volný cholesterol přenášený touto cestou je esterifikován (pomocí LCAT obsažené v HDL) a přesouván z povrchu do jádra HDL. Z diskoidní částice se stává částice sférická, HDL₃, která estery cholesterolu předává zpět do VLDL (a IDL) výměnou za triacylglyceroly a tím se mění na částici HDL₂ (v tomto procesu se velmi významně uplatňuje transportér/přenašeč CETP, který v podstatě zastává kritickou roli v regulaci cirkulujících hladin HDL, LDL a apoA-I a stal se tak cílem mnoha farmaceutických produktů, inhibitorů CETP, namířených proti hyperlipoproteinemiím, resp. majících za cíl zlepšit poměr mezi HDL a LDL, tj. zvýšit hladinu HDL a pokud možno snížit hladinu LDL). Tato částice (HDL₂) je potom buď vázána (specifickým receptorem) na povrchu hepatocytu, nebo z ní jaterní lipáza odštěpí triacylglyceroly a vzniká z ní opět částice HDL₃. Úloha ABC1 v reverzním transportu cholesterolu je zřejmá u jedinců s defektem příslušného genu. Tito jedinci trpí *Tangierovou chorobou*, která je typická dvěma klinickými znaky, tonzilami přesycenými lipidy a nízkou hladinou sérového HDL.

Metabolismus HDL



HRHL = heparinem uvolnitelná jaterní lipáza; LCAT = lecitin cholesterolová acyltransferáza; LPL = lipoproteinová lipáza; HRHL hydrolyzuje triacylglyceroly, ale také fosfolipidy na povrchu HDL₂, uvolňuje cholesterol, který je zachycen játry, což umožňuje tvorbu malých a hustších HDL₃. Aktivitu HRHL zvyšují androgeny a snižují estrogeny (vyšší koncentrace plazmatických HDL₂ u žen).

Odnímání volného cholesterolu periferním buňkám a jeho esterifikace, aby mohl být přenesen do VLDL zbytků a transportován do jater k eliminaci, tj. **udržení cholesterolové homeostázy**, je **nejdůležitější biologickou funkcí HDL**.

Tento děj je řízen tzv. **komplexem reverzního transportu cholesterolu**, který sestává z

- o lecitin cholesterolové acyltransferázy (LCAT),
 - o apoproteinů A-I, E a D,
 - o určitých proteinů přenášejících lipidy (protein přenášející estery cholesterolu – CETP) a
 - o systému monocytu/makrofágy.
- HDL částice bohaté volným cholesterolem poskytují substrát (tj. cholesterol) enzymu esterifikujícímu cholesterol (tj. LCAT). LCAT přenáší mastnou kyselinu z lecitinu na alkoholovou skupinu cholesterolu. Zdrojem lecitinu jsou povrchové fosfolipidy ostatních lipoproteinů (zejména to jsou VLDL a chylomikrony). Aktivátorem LCAT jsou apoA-I a C-I. Během tohoto procesu se utvářejí sférické částice (HDL₃,) 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 apoA-I na částici. Poměr A-I/A-II je v HDL₂ třídě vyšší než ve třídě HDL₃.
- Existuje úzký vztah mezi aktivitou lipolytických enzymů (LPL, lipoproteinové lipázy a H-TGL, jaterní triacylglycerolové lipázy) a koncentrací HDL. V případě deficiencie LPL 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 apoA-I. U některých hypertriacylglycerolemii je zpomalena výměna apoC 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 triacylglycerolemii.
- V reverzním transportu cholesterolu hrají důležitou roli *makrofágy*. Akumulace cholesterolu stimuluje tyto buňky k syntéze velkého množství apoE, který je vylučován ve formě *apoE/fosfolipidových disků* a slouží jako *akceptor cholesterolu nezávislý na HDL*. Během esterifikace cholesterolu v reakci s LCAT inkorporují HDL z těchto disků apoE. Tyto *cholesterol ester- a apoE-bohaté HDL* jsou pravděpodobně rozpoznávány přednostně apoE receptorem v játrech a vychytávány.

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

Stránka o HDL a video: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/Lipoproteins/>

Lipoprotein(a)

Lp(a) = s lipoproteinem asociovaný antigen)

Má obdobné složení jakou mají částice LDL, kromě apoB obsahuje navíc také *apoprotein(a)*.

Metabolismus Lp(a)

O metabolismu *lipoproteinu(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 apoB100, druhého apoproteinu nacházejícího se v Lp(a). Výsledky experimentů naznačují, že apo(a) je secernován hepatocyty a na LDL částice se váže extracelulárně. Degradční cesta Lp(a) není jasná. Principiálně může být Lp(a) vychytáván LDL receptorem, ale zdá se, že tato degradční 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*

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 (apoB,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/sfúzují s lyzozomy, 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 zahlnením volným cholesterolem.

Kromě *apoB100*, hlavního apolipoproteinu LDL, váže LDL receptor také *apoE*, a proto se nazývá *apoB100-E receptor*. Lipoproteiny bohaté apoE 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 apoE. Umožňuje to *LDL receptorový protein (LRP)*. LRP je multifunkční receptor: váže *apoE, LPL, HTGL, apoB100* 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, Jak kosterní svalstvo, mozek, makrofágy).
- Již bylo zmíněno, existuje ještě přídatný mechanismus využití LDL buňkami, tzv. **scavenger pathway (odklízcí cesta)**.

Makrofágy obsahují dva typy scavengerových receptorů (SR), a to makrofágový SR-I a makrofágový SR-II. Další dělení pak rozlišuje SR třídy A, SR třídy B, mucinu podobné (mucin-like) receptory a endoteliální receptory. Po navázání LDL mohou být receptory buď buňkou pohlceny (endocytóza) nebo zůstanou na povrchu a zprostředkují přenos LDL do buňky.

Ve třídě B se nacházejí scavengerové receptory typu I (SR-BI) a CD36.

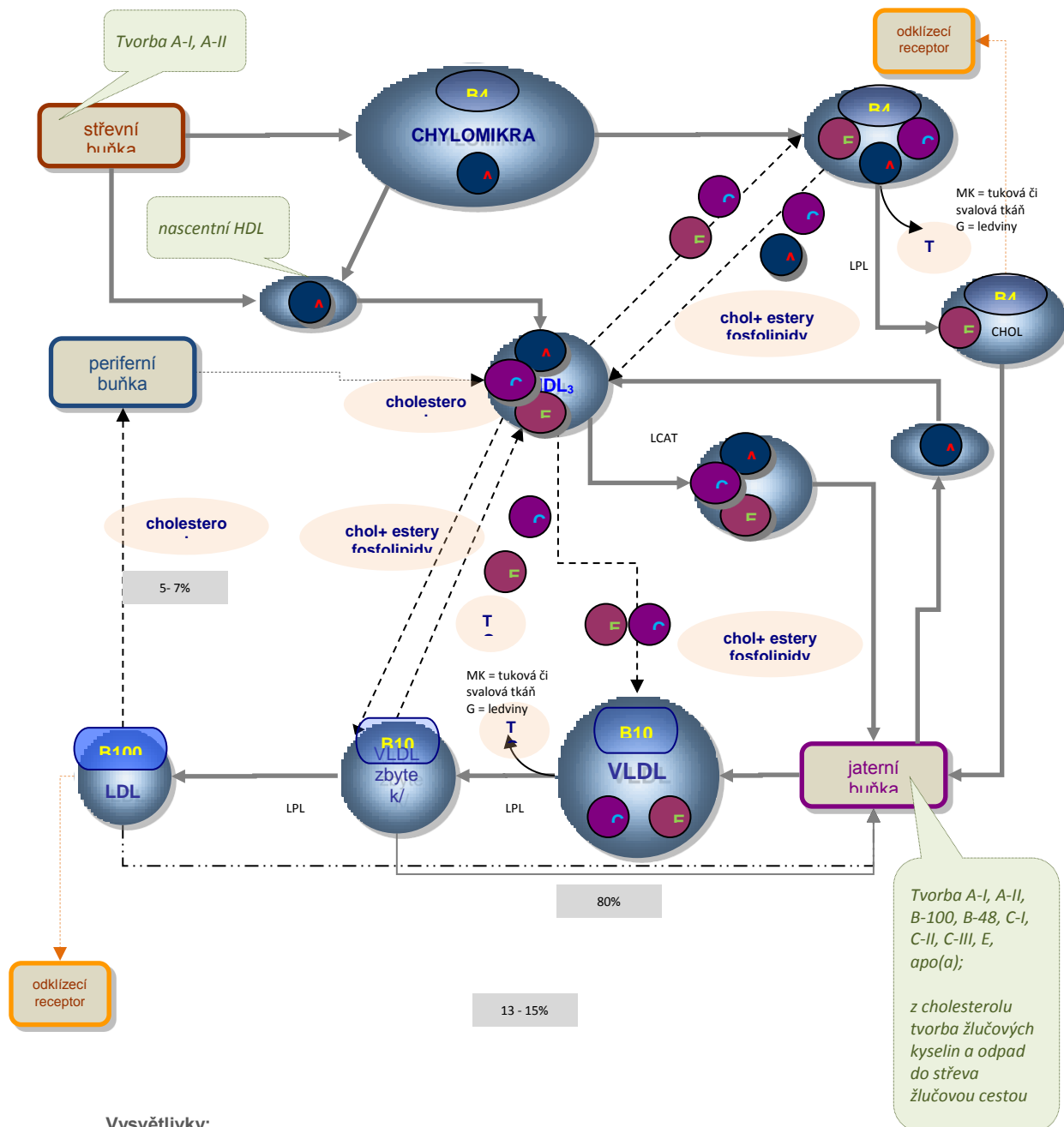
SR-BI protein je jaterní endogenní receptor pro HDL. Interakce HDLxSR-BI v nadledvině je mechanismem, který dodává cholesterol pro syntézu steroidních hormonů v této tkáni.

CD36 je také znám jako translokáza mastných kyselin (*Fatty Acid Translocase, FAT*), proto se často označuje jako FA/CD36. Je jedním z receptorů odpovědných za přijetí mastných kyselin buňkami i za absorpci oxidovaných (nebo enzymaticky modifikovaných, acetylovaných, glykovaných...) LDL (oxLDL) makrofágy.

Naznačené scavengerové/odklízcí cesty nemohou být ani regulovány, ani nasyceny, jsou k máni vždy, když je aktivita mechanismů specifických receptorů omezena. Při zvýšené hodnotě LDL to nevyhnutelně vede k přesycení scavengerových buněk cholesterolem, které degenerují na *pěnové buňky* přeplněné lipidy a které hrají významnou roli v aterogenezi. Na druhé straně, odklízcí receptory zjevně odstraňují pozměněné LDL z plazmy a tak chrání organismus před zátěží těmito lipoproteiny.

<http://video.aol.com/video-detail/lipoprotein-structure/94749093> Stručné video znázorňující strukturu lipoproteinů a úlohu lipoproteinových receptorů lze nalézt na adrese:

Zjednodušené schéma metabolismu lipoproteinů



Vysvětlivky:

- > hlavní metabolická cesta;
 - - - - -> vzájemná výměna komponent (apoB se nevyměňuje!)
 - · - · - ·> LDL je částečně zpracováván játry
 - · · · ·> odklizení nadbytku částic (přes tzv. „scavenger“ receptory)
- MK* = (volné) mastné kyseliny
G = glycerol

Schéma je zjednodušeno, pro detailnější náhled na přeměny HDL viz obrázek výš.

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

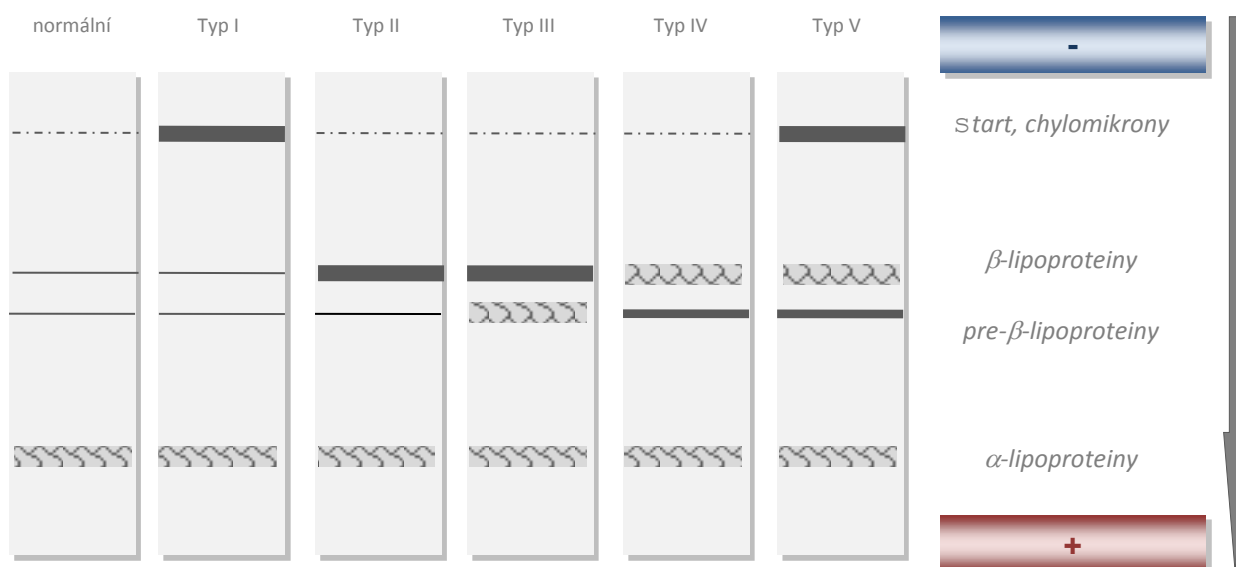
Elektroforetické dělení

na různých nosičích. Elektroforeticky 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

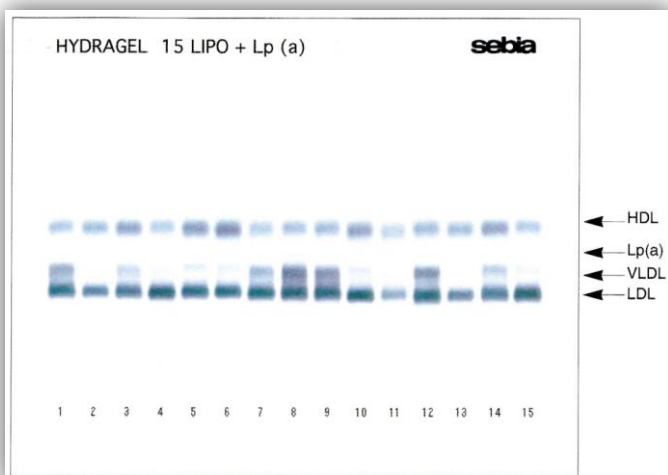
Na základě ultracentrifugace a tomu odpovídajícího elektroforetického dělení (sér pacientů s poruchami metabolismu lipidů), rozlišoval *Fredrickson* pět typů *hyperlipoproteinémií*. Jednotlivé třídy se lišily podle obsahu příslušných lipoproteinů. Toto dělení se dnes již neužívá, elektroforéza lipoproteinů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

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 reálný elektroforeogram dělení lipoproteinů a Lp(a) na folii s agarosovým gelem *Hydraqel 15 LIPO + Lp (a)* firmy *Sebia*

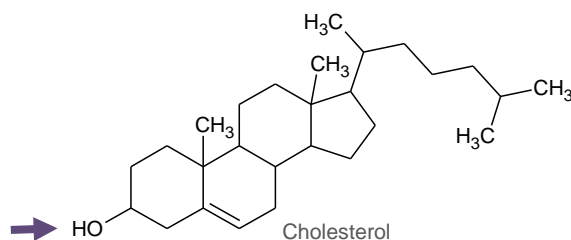
Lipoprotein (a)

Stanovuje se elektroforeticky nebo imunochemicky

Cholesterol a triacylglyceroly

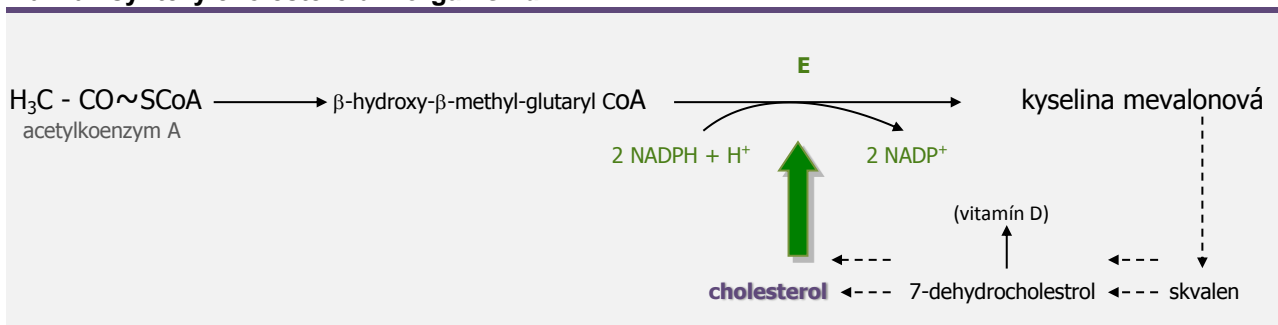
Cholesterol

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



Cholesterol se vyskytuje prakticky v každé tělesné buňce, zvláště hojný je v nervové tkáni. Mnohé tkáně ho syntetizují z acetyl-CoA jako *amfipatický* (má hydrofobní i hydrofilní vlastnosti) lipid je významnou složkou membrán a vnější vrstvy plazmatických lipoproteinů. Nachází se také v živočišných tucích, ne však v rostlinných. Často se vyskytuje ve formě esterů s mastnými kyselinami (esterifikována je OH- skupina, označená v horním vzorci šipkou), což je zásobní forma cholesterolu ve většině tkání. V lipoproteinech tvoří estery cholesterolu, jakožto nepolární lipidy, jádro lipoproteinu. Systematický název cholesterolu je *3-hydroxy-5,6-cholesten*. Je typickým produktem živočišného metabolismu, prekurzorem všech ostatních steroidů v těle, kortikoidů, pohlavních hormonů, žlučových kyselin a vitamínu D. Z organismu se cholesterol vylučuje žlučí ve formě žlučových kyselin, resp. jejich solí (*žlučové soli*) a jako cholesterol, který se ovšem ve střevě mění činností bakterií na koprosterol (bakteriální redukce dvojně vazby mezi uhlíky C5 a C6).

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* (cholesterol, produkt, ale i exogenní 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. Aktivitu (nikoliv syntézu) tohoto enzymu ovlivňují hormony, např. inzulin a hormony štítné žlázy aktivitu tohoto enzymu zvyšují, naopak glukagon a glukokortikoidy ji snižují. Čárkované šipky naznačují, že metabolická cesta obsahuje ještě další meziprodukty (cesta není znázorněna úplně).

Metody stanovení

1. Neenzymové – levné, nevhodné k automatizaci
2. 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

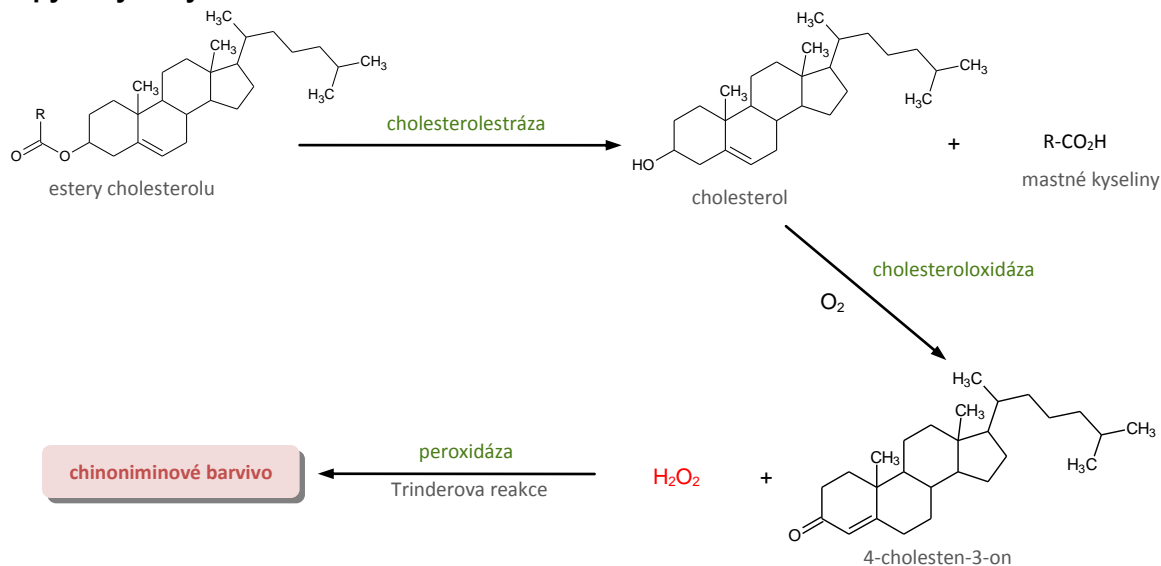
Diagnostická souprava PLIVA-Lachema Diagnostika: Cholesterol (CHOL 150): Modifikace podle Liebermanna a Buchardta, kromě kyseliny sírové a anhydridu kyseliny octové (= acetanhydridu) vstupuje do reakce navíc kyselina 2,5-dimethylbenzensulfonová, která potlačuje interferenci bílkovin. Zelené zbarvení 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 dál.

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



Cílové hodnoty: do 5,0 mmol/l

Příklady diagnostických souprav ERBA Lachema :

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 reagensii (liquid = kapalný, kapalina); výsledné růžové zbarvení se fotometruje při 500 – 520 nm a při 546 nm

Soupravy se liší pouze velikostí balení

Podobné soupravy vyrábí řada dalších firem.

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 dále), 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 reagensii (cholesterolestráza, 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 apoA-I, apoA-II a apoE; používá se imunoafinitní chromatografie nebo 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 denaturaci; 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 protilátku proti apoB a apoC-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)

Principy dvou konkrétních diagnostických souprav od dvou výrobců

- **Diagnostická souprava firmy Sentinel, HDL Cholesterol, Direct Liquid D.P.R.**, využívá ve vhodném prostředí (pufru 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*)

Referenční metody

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

Cílové hodnoty: nad 1,0 mmol/l

Kromě absolutní hodnoty je důležitý i vztah k ostatním běžně stanovovaným 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 „odklížeče“ 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 apoB.

Metody stanovení

Výpočet koncentrace LDL-C

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

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

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

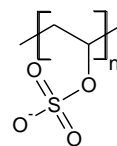
Existuje několik možností výpočtu, což jsou modifikace původního *Friedewaldova* vzorce, které zahrnují hladinu celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triacylglycerolů. Výpočty jsou více či méně ovlivněny hypertriacylglycerolmií.

Precipitace sulfatovanými polyanionty

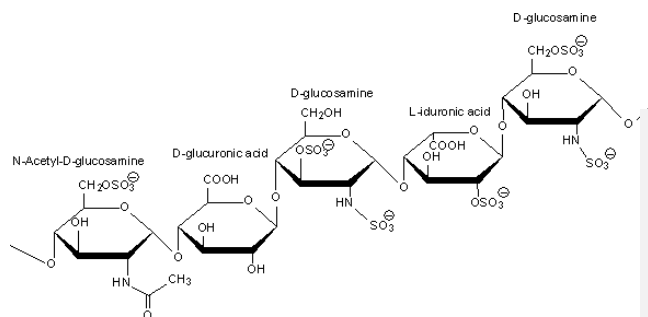
Principem je selektivní precipitace HDL-C látkami jako jsou dextran, polyvinylsulfát, heparin)

Příklady použití u některých výrobců dg. souprav:

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



Obecný vzorec polyvinylsulfátu



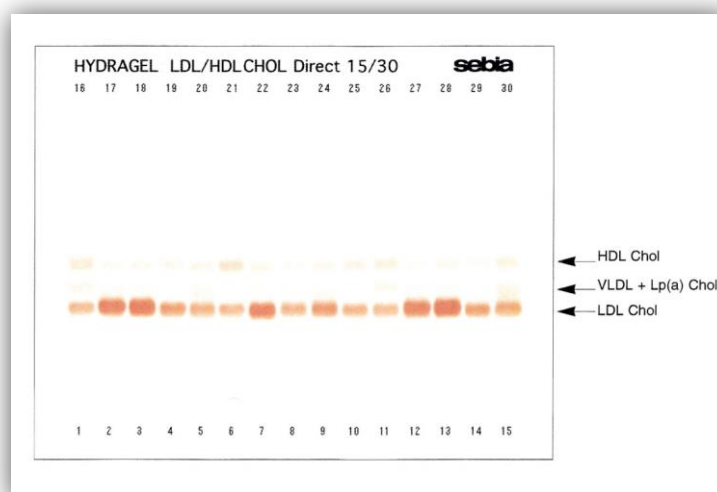
Heparin je *glykosaminoglykan (GAG)*, Tyto GAG představují komplex heterogenních směsí opakujících se disacharidových jednotek složených z *uronových kyselin* (kyseliny D-glukuronová nebo L-iduronová) a D-glukosaminu nebo N-acetyl-D-glukosaminu. Každá monosacharidová jednotka může být sulfatována, přičemž stupeň sulfatace je různý – od žádné sulfátové skupiny na monosacharidu po tři skupiny na jednom monosacharidu.

Imunoseparační metoda

Principem je selektivní imunoprecipitace VLDL, IDL a HDL pomocí polystyrenových latexových částic s navázanými polyklonálními protilátkami proti apoA-I a apoE. 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 barbitolovém pufru o pH 8,6, s enzymatickým vybarvením frakcí



Elektroforeogram dělení cholesterolu na foliích s agarosovým gelem
Hydragel LDL/HDLCHOL Direct 15/30 fy Sebia

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)

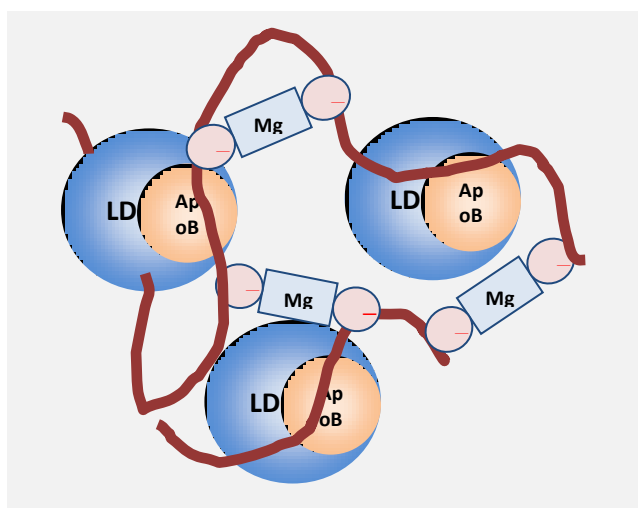
Ultracentrifugační separace lipoproteinů

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, ERBA-Lachema aj.
- Homogenní zákalová metoda (turbidimetrie):** non-LDL částice jsou zamaskovány dipolárním detergentem, současně je jim tak také zabráněno tvořit komplexy. Po přidání směsi pufru/polyanion/detergent/ Mg^{2+} vytvoří LDL částice s polyaniontem (který má tvar vlákna, nazývá se *tentacle*, což doslova přeloženo znamená *chapatlo*) specifické komplexy, které jsou zesilovány pomocí hořečnatých kationtů (polyanion omotá LDL částice a mezi vlákny i v samotném vláknu se vytvoří můstky pomocí Mg^{2+}). Vzniklá turbidita se měří fotometricky.
Poznámka: tentacle („chapatlový“) polyanion = PAMPS, tj. kyselina poly-(2-akrylamido-2-methyl-1-propansulfononová)



Vysvětlivky k obrázku vlevo:

- hořečnaté ionty (Mg^{2+})
- záporný náboj na polyaniontu
- tentacle* („chapatlový“) polyanion = PAMPS, tj. kyselina poly-(2-akrylamido-2-methyl-1-propansulfononová)

Schéma tvorby specifického komplexu LDL částic s polyaniontem a hořečnatými ionty

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).

Klinické poznámky

Hladina cholesterolu v séru vykazuje pozitivní korelaci s výskytem aterosklerózy a koronárním srdečním onemocněním. Totéž však platí i o triacylglycerolech. U pacientů s cévními chorobami mohou být zvýšeny VLDL (hladina LDL normální), LDL (hladina VLDL normální), LDL i VLDL. *Diabetes mellitus*, *lipoidní nefróza*, *hypotyroidismus* a jiné stavy hyperlipidémie, tj. choroby s dlouhodobě zvýšenými hladinami VLDL, IDL nebo LDL jsou často provázeny předčasnou nebo velmi závažnou aterosklerózou.

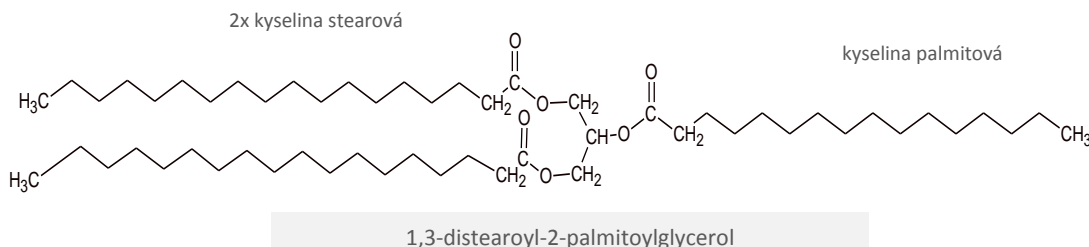
Pro snižování sérového cholesterolu mají význam

- **změna stravy**; jedná se zejména o náhradu některých nasycených mastných kyselin *polyenovými mastnými kyselinami* a *mastnými kyselinami s jednou nenasycenou vazbou*, tedy o zařazení přirozeně se vyskytujících olejů s polyenovými mastnými kyselinami (slunečnicový, kukuřičný, sójový) či olejů s mastnými kyselinami s jednou nenasycenou vazbou (olivový) do jídelníčku. Podstata účinku těchto kyselin není známa, předpokládá se účinek na metabolismus (zrychlení katabolismu LDL) prostřednictvím ovlivnění LDL- receptoru aj.
- **způsob života**; hladina cholesterolu je ovlivňována hladinou mastných kyselin, které zase reagují např. na nikotin (kouření), psychické stresy, fyzickou inaktivitu apod.
- **léčba** (nepomohou-li předchozí dvě aktivity). Zde se zasahuje do metabolismu cholesterolu např. *cholestyraminovou pryskyřicí (Questran)*, která přeruší enterohepatální oběh žlučových kyselin (tyto produkty degradace cholesterolu se nevyloučí stolicí zcela, ale část se vrací enterohepatálním oběhem do jater a zpětnou vazbou snižují přeměnu cholesterolu na žlučové kyseliny; po přerušení tohoto působení pryskyřicí nebo chirurgicky, probíhá přeměna cholesterolu na žlučové kyseliny zvýšenou měrou). Resorpci z gastrointestinálního traktu může snižovat *sitosterol*, rostlinný sterol. Některá léčiva působí na různých úrovních biosyntézy cholesterolu jako inhibitory (*mevastatin* a *lovastatin* z hub). *Klofibrát* a *gemfibrozil* ovlivňují sekreci VLDL z jater.

Triacylglyceroly

Triacylglyceroly (triglyceridy) jsou estery trojsytného alkoholu glycerolu a mastných kyselin. Většina přírodních tuků jsou *smíšené acylglyceroly*, tzn., že mají v esterových pozicích různé mastné kyseliny.

Triacylglycerol



Z hlediska stereochemie nejsou uhlíky C1 a C3 identické, enzymy je snadno rozlišují a jsou téměř vždy specifické pro některý z těchto uhlíků. Poslední uhlík ve vzorci bývá označován ω (omega). Během metabolismu se uvolňují i částečné acylglyceroly, tj. monoacylglyceroly či diacylglyceroly. Triacylglyceroly jsou hlavní zásobní formou mastných kyselin, které jsou zase zásobní formou dostupné energie pro buňky.

Hlavní zásobárnou triacylglycerolů v těle je tuková tkáň. Tato tkáň je aktivní, dochází zde neustále k *lipolýze* a k *esterifikaci*. Jedná se o dva rozdílné děje, s různými reaktanty a enzymy, nejedná se o jednu zvrtně probíhající reakci. Oba děje jsou regulovány různými nutričními, metabolickými a hormonálními faktory. Výsledkem obou dějů je hladina volných mastných kyselin v krevní plazmě, která dále ovlivňuje metabolismus jiných tkání, např. jater a svalů.

Metabolismus tukové tkáně a faktory, které jej ovlivňují, mají tak značný význam pro celý organismus. Z hormonů se uplatňuje zejména *insulin*, který inhibuje lipolýzu. Naopak *gukokortikoidy* a *hormony štítné žlázy* lipolýzu podporují (k hormonům viz kapitola 14). Obecně je třeba si uvědomit, že tukovou tkáň lze považovat za samostatný endokrinní orgán, jehož buňky (adipocyty), produkují řadu hormonálně aktivních látek, které ovlivňují nutriční stav jedince.

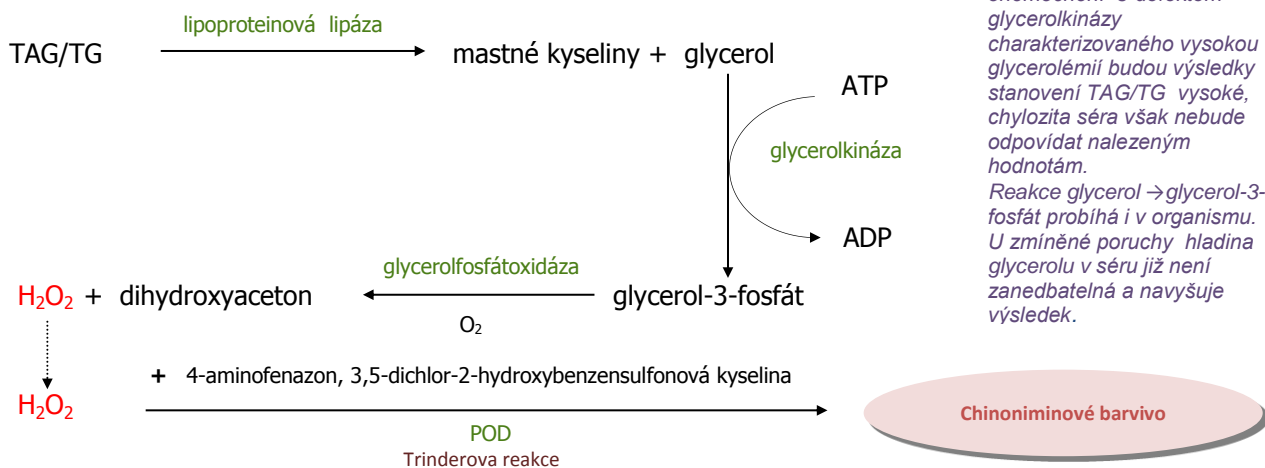
Metody stanovení

- 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



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 reagensii (liquid = kapalina, kapalný); fotometrie při 500, resp. při 546 nm; soupravy se liší pouze velikostí balení

Cílové hodnoty: do 2 mmol/l

Hypertriacylglycerolemie: > 2 mmol TG/l
Mléčně zakalené sérum (chylózní sérum): > 4 mmol TG/l

Klinické poznámky

Dojde-li k poruše rovnováhy mezi rychlostí tvorby triacylglycerolů a jejich degradací či odsunem, může dojít ke ztukovatění jater. Příčinou mohou být *stoupající hladina volných mastných kyselin v plazmě* (mobilizace tuku v tukové tkáni, hydrolýza lipoproteinů, hydrolýza triacylglycerolů v chylomikronech, potrava s vysokým obsahem tuku, hladovění) nebo *metabolický blok produkce plazmatických lipoproteinů* (zablokování syntézy apolipoproteinů, zastavení syntézy lipoproteinu z lipidu a apolipoproteinu, nedostatek fosfolipidů, které jsou součástí lipoproteinů, špatný sekreční mechanismus). Syntézu apolipoproteinů mohou blokovat i např. některá antibiotika (*puromycin*), ale také tetrachlormetan, chloroform, fosfor, arsen, olovo a jiné látky.

Lipidové indexy

Posuzování hladiny celkového cholesterolu nestačí, vždy je nutno sledovat i ostatní parametry, tj. hladinu triacylglycerolů a HDL a LDL cholesterolu. Využívají se i tzv. *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. $[\text{HDL cholesterol}] / [\text{cholesterol}]$, 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%

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

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

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

Poměr TG / HDL = $\text{triacylglyceroly} / \text{HDL-C}$

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

Poměr apoA-I / apoB = $\text{apolipoprotein A-I} / \text{apolipoprotein B}$

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

Doplněk:

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

Poruchy metabolismu lipidů (lipoproteinů)

Poruchy metabolismu lipidů se týkají *transportu lipidů* (dyslipoproteinémie) nebo ukládání lipidů v buňkách (sfincholipidózy).

Dyslipoproteinémie (DLP)

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

Dyslipoproteinémie 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 obrázky na následující straně. Jsou charakterizovány změnami v koncentracích cirkulujících lipoproteinů.

Dělení dyslipoproteinemií (DLP)

I. Podle příčiny

1. **DLP vrozená** – je popsáno několik desítek poruch v metabolismu lipidů; v ČR asi 2% populace s touto poruchou
2. **DLP 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)

II. Podle laboratorního nálezu

a. **Klasifikace Fredericksonova** (původní dělení dyslipoproteinemi, hyperlipoproteinemií). Klasifikace vycházela z Fredericksonova elektroforetického schématu (viz str. 11-11). Jedná se o tzv. „fenotypizační klasifikační schéma“:

- Typ I, primární hyperchylomikronémie (zvýšení chylomikronů)
- Typ IIa, primární hypercholesterolemie (zvýšení LDL)
- Typ IIb, primární kombinovaná hyperlipoproteinémie (zvýšení VLDL + LDL)
- Typ III, primární dysbetalipoproteinémie (zvýšení β -VLDL)
- Typ IV, primární hypertriacylglycerolemie (zvýšení VLDL)
- Typ V, primární kombinovaná hyperlipoproteinémie (zvýšení VLDL + chylomikronů)

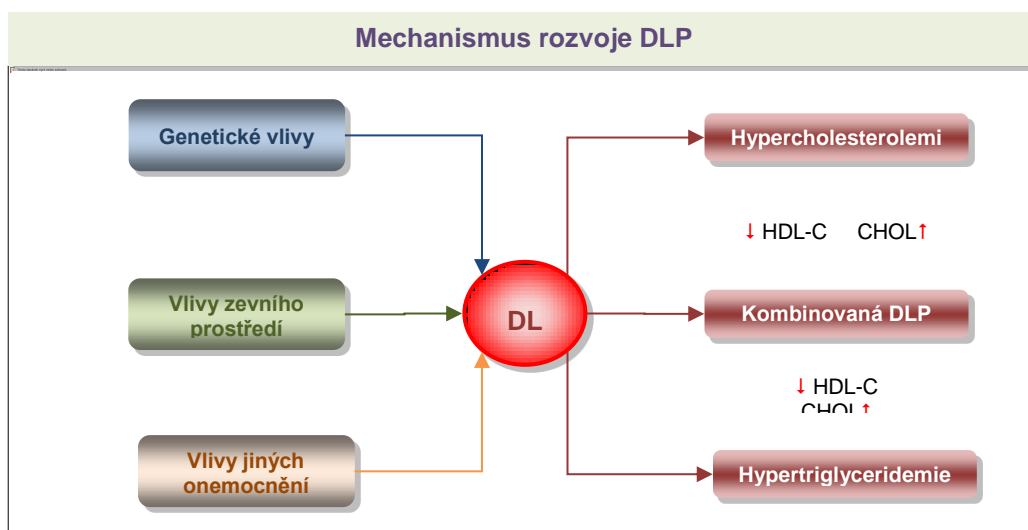
Protože tato klasifikace neodpovídá zcela genotypu, tj. genetická porucha se může projevit různě, či dokonce v průběhu choroby může jeden fenotyp přecházet v druhý, byla tato typizace postupně opuštěna.

- b. **Terapeutická klasifikace:** jak vyplývá z předchozího textu, dyslipoproteinémie jsou především hyperlipidémie (hypolipidémie jsou vzácné):
- **Hypercholesterolemie** (též izolovaná hypercholesterolemie): izolované zvýšení celkového cholesterolu, převážně v LDL
 - **Kombinovaná hyperlipidémie:** současné zvýšení cholesterolu i triacylglycerolů
 - **Hypertriacylglycerolemie=hypertriglyceridemie** (též izolovaná hypertriacylglycerolemie případně izolovaná hypertriglyceridémie): izolované zvýšení triacylglycerolů

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,) apoA-I a apoB100 ev. další apolipoproteiny
- případně se provádí elektroforéza lipoproteinů
- ev. další specializovaná vyšetření krevních lipidů.



Stanovení lipidů - preanalytická fáze:

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 ½ 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 apoB100 a defekt genu pro LDL receptor) pro upřesnění diagnostiky familiární hypercholesterolemie
- *Vyšetření apoE* (na izoformy E2, E3, E4) u dysbetalipoproteinemie
- *Vyšetření defektu lipoproteinové lipázy, jaterní lipázy, apoC-II, LCAT, CETP* pro potřeby diagnostiky některých vzácných poruch metabolismu lipidů
- *Vyšetření funkční aktivity LDL receptorů* (stupeň postižení LDL receptorů) u nemocných s familiární hypercholesterolemií

Poruchy z ukládání lipidů

Poruchy z ukládání lipidů mají svůj původ v defektech buněčných enzymů zúčastněných v přeměnách lipidů.

Dělí se na

- **metabolické poruchy katabolismu cholesterolu**
 - *Wolmanova choroba*, vzácná dědičná porucha metabolismu, při níž se ukládají estery cholesterolu a triacylglyceroly do buněk jater, ledvin, nadledvin, hematopoetického systému a do tenkého střeva;
 - *Familiární deficit LCAT*, další vzácná dědičná porucha, v séru jsou zvýšeny triacylglyceroly, hladina cholesterolu je variabilní, chybí estery cholesterolu, lipidy se ukládají na rohovce, která je mléčně zakalena, v glomerulární membráně (dochází k proteinurii), v kostní dřeni a ve slezině (*sea blue histiocyty*), v erytrocytech (anémie), v cévní stěně (ateromy), dochází i ke změnám v plazmatických lipoproteinech (abnormální charakter elektroforézy lipoproteinů)
- **poruchy v přeměně sfingolipidů – sfingolipidózy**. Jedná se o skupinu dědičných poruch sfingolipidů, (membránových lipidů). Tyto lipidy se hromadí v různých orgánech. Jména chorob jsou podle ukládajícího se lipidu (gangliozidóza, glukocerebrozidóza, galaktosylceramidóza, ceramidtrihexosidóza, sfingomyelinóza, ceramidóza), případně podle autora, který ji první popsal (glukocerebrozidóza – Gaucherova choroba, ceramidtrihexosidóza – Fabryho choroba apod.). Tyto choroby se vyskytují většinou v několika formách, prakticky vždy vedou k mentální retardaci, degeneraci nervového systému, poškození zraku a dalším závažným defektům.

Ateroskleróza

Pro aterosklerózu je charakteristické ukládání cholesterolu a esterů cholesterolu z lipoproteinů obsahujících apoB100 v pojivových tkáních arteriálních stěn. 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:

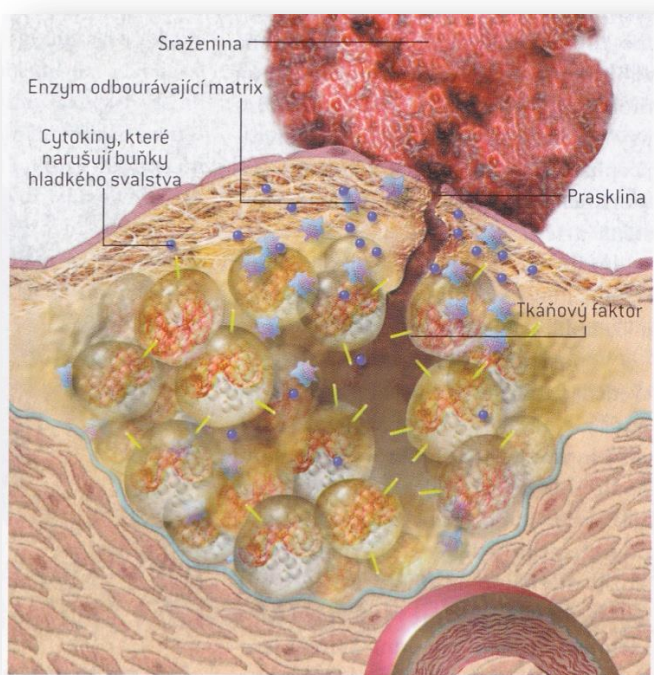
- *Intima*, která je tvořena především endotelovými buňkami vystýlajícími cévy. Tyto buňky jsou uloženy na tenké vrstvě mezibuněčné hmoty (matrix) řídkého vaziva protkaného tu a tam málo diferencovanými elementy hladkého svalstva (produkují matrix)
- *Media*, obsahuje zejména buňky hladké svaloviny
-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



Prasknutí plátu

Scientific American, české vydání, květen 2002, Espero Publishing

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

(podrobněji viz úvodní články této kapitoly o apolipoproteinech, lipoproteinech a jejich metabolismu)

- Brání oxidaci LDL, protože mohou přepravovat antioxidační 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 popsany výš v textu. Potlačení zánětu např. aspirinem má kladný vliv na potlačení rizika vzniku AIM. Hodnota CRP může napovídat o probíhající 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.

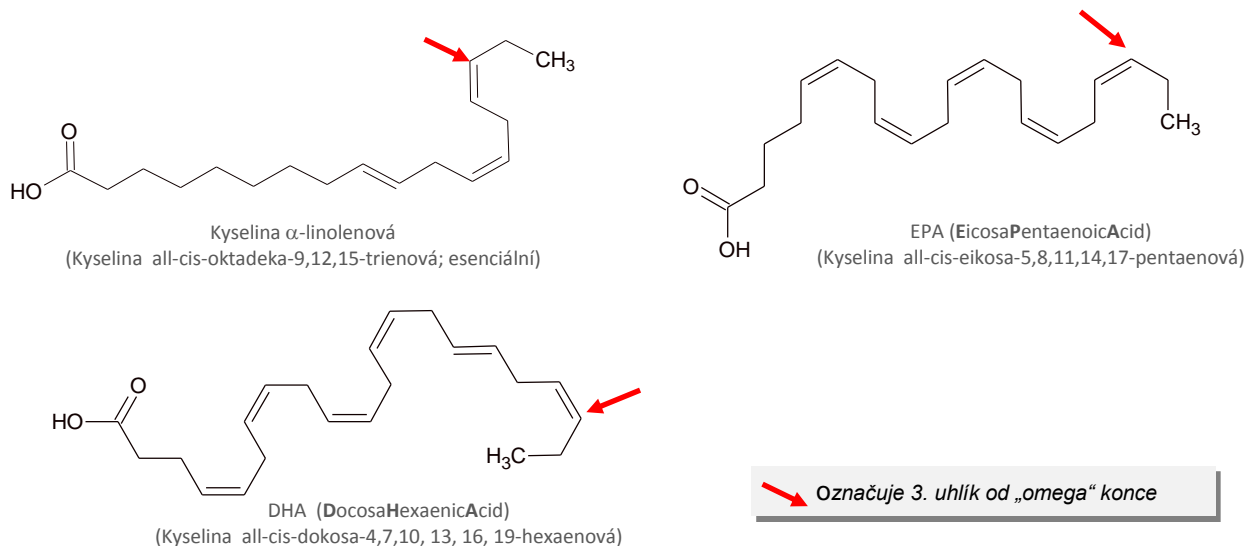
Peter Libby, Ateroskleróza: Nový pohled, Scientific American, české vydání, květen 2002 str. 29 – 37

Polyenové mastné kyseliny

Na závěr ještě několik slov o určitých nenasycených mastných kyselinách, diskutovaných zvláště v souvislosti s předchozím tématem. Jedná se o tzv. ω -3 (neboli n-3) a ω -6 (neboli n-6) nenasycené mastné kyseliny, ω se nazývá poslední uhlík v mastné kyselině (srovnej též s výkladem na [str.](#) 11-21).

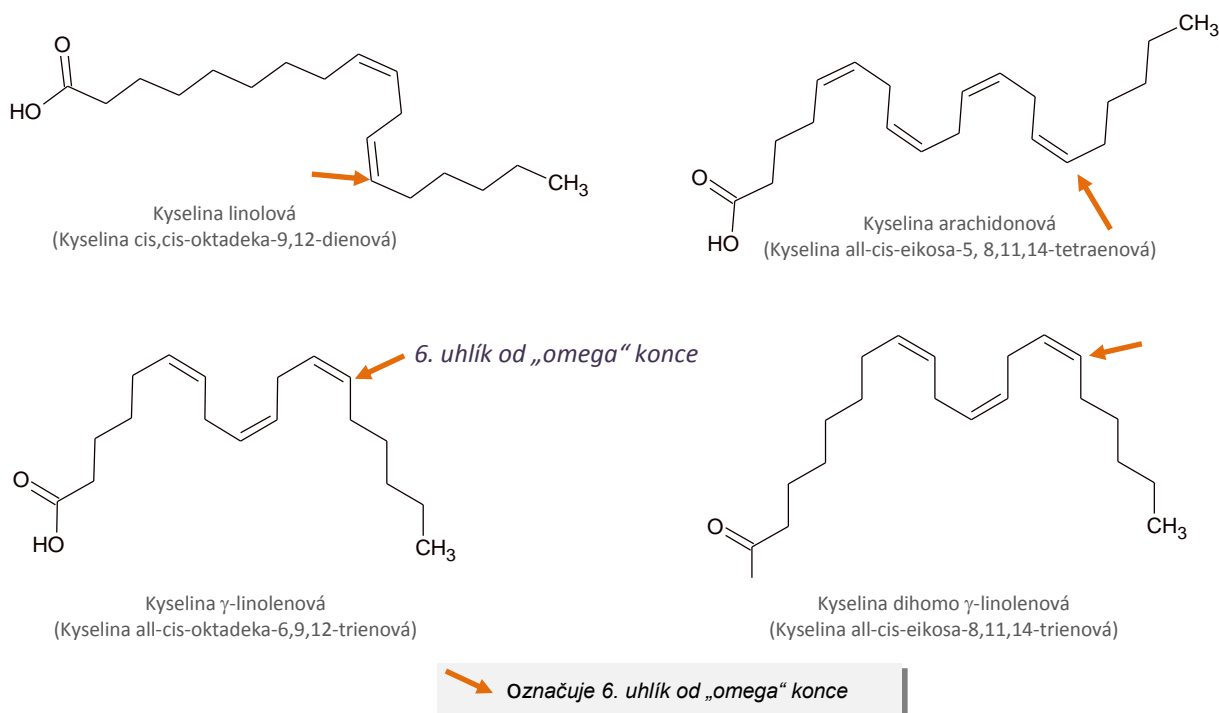
Omega-3-nenasycené mastné kyseliny (n-3 kyseliny)

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.



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, cévních 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.



Přehled lipidů

Lipidy								
Stavební složky nebo produkty metabolismu lipidů	Isoprenoidní lipidy		Složité lipidy			Neutrální tuky		Vosky
	Estery mastných kyselin							
			Sfingolipidy		Glycerolipidy			
			Glykolipidy	Fosfolipidy				
Uhlovodíky Vyšší alkoholy Vyšší aldehydy Mastné kyseliny Prostaglandiny	Steroidy Karotenoidy	Estery cholesterolu	Cerebrosidy Sulfatidy Ceramidooligosacharidy Gangliosidy	Sfingomyeliny	Fosfatidylcholiny Fosfatidyletanolaminy Fosfatidylseriny Fosfatidylinositoly Fosfatidylglyceroly Estery glycerlyeteronů (plasmalogeny)	Monoacylglyceroly Diacylglyceroly Triacylglyceroly	Diolové lipidy	Metyl a etylestery vyšších alkoholů s vyššími mastnými kyselinami



sphingosin

Poznámky – výklad některých pojmů:

- Isoprenoidní – 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 sphingosin
 Glycero- v lipidech je obsažen alkohol glycerol

Podle Šantavý a spolupracovníci, *Klinická biochemie*

Užitečné adresy:

<http://erkki.kennesaw.edu/schem220/lipoprotein.gif>

<http://search.live.com/images/results.aspx?q=lipoprotein&FORM=BIRE#>

[Vybrané obrázky](#)

Kontrolní otázky

1. Jaká společná vlastnost sdružuje „lipidy“ do této skupiny?
2. Jak se lipidy dopravují v krevní plasmě?
3. Co jsou to apo(lipo)proteiny, jak se rozdělují? K čemu slouží? Liší se jejich složení podle původu částic (např. podle původu triglyceridů)? Jak se označují třídy apoproteinů?
4. Co je to lipoprotein? Znáte názvy skupin lipoproteinů a původ těchto názvů (zkratk)?
5. Jaký je význam lipoproteinových receptorů? Jaké mají funkce?
6. Chápete alespoň rámcově metabolismus lipoproteinů? Dochází během metabolismu lipoproteinů k výměnám apoproteinů? Všechny?
7. Je HDL uniformní, jednotná skupina lipoproteinů? Z čeho se HDL částice skládají? Jakou mají HDL částice fyziologickou funkci?
8. Jak byste stanovili jednotlivé apo(lipo)proteiny?
9. Víte jak se rozdělují lipoproteiny v homogenním stejnosměrném elektrickém poli? Jaký je vztah výsledku tohoto dělení k dělení lipoproteinů ultracentrifugací v hustotním gradientu?
10. Jak se stanovuje celkový cholesterol?
11. Jaký je rozdíl mezi celkovým, HDL a LDL cholesterolem? Tušíte jejich fyziologickou funkci?
12. Chápete obecný princip přímého stanovení HDL a LDL cholesterolu? Jakou roli v tom hrají metody na stanovení celkového cholesterolu?
13. Nebylo by lepší vymyslet metodu na úplné odstranění cholesterolu z organismu (než na jeho snižování)? Každou odpověď zdůvodněte.
14. Co jsou to triacylglyceroly? Jakou mají fyziologickou funkci? Kde se skladují?
15. Co víte o tukové tkáni?
16. Jak se stanovují triacylglyceroly?
17. Co jsou to „omega 3“ a „omega 6“ kyseliny?
18. Víte co jsou to dyslipoproteinemie? Jak se rozdělují? Jak vznikají? Jaké jsou jejich důsledky? Jak a kde se vyšetřují? Co z toho můžete vyšetřit v „běžné“ klinicko-biochemické laboratoři? Jakými metodami?
19. Existují i jiné choroby s původem v tukovém metabolismu?
20. Dokážete rozdělit lipidy do jednotlivých skupin? Jak se tyto skupiny jmenují? Jaké mají společné znaky? Zopakujte si co jsou to estery, co je to glycerol, sfingosin...

OBSAH:

Lipidy	1
Úvod	1
Apolipoproteiny	2
Základní charakteristiky jednotlivých apolipoproteinů	3
Metody stanovení apolipoproteinů	5
Lipoproteiny.....	5
Jednotlivé lipoproteiny a jejich metabolismus.....	6
Chylomikrony	6
VLDL.....	7
LDL	7
HDL	10
Lipoprotein(a)	12
Úloha lipoproteinových receptorů	13
Metody stanovení lipoproteinů	15
Ultracentrifugace	15
Elektroforetické dělení	15
Cholesterol a triacylglyceroly	16
Cholesterol.....	16
Metody stanovení	16
Neenzymové metody – principy	16
Referenční metoda	17
Principy enzymových metod stanovení cholesterolu	17
Metody stanovení	17
Precipitační frakcionace	17
Elektroforetické stanovení	17
Gradientová gelová elektroforéza (GGE).....	17
Kapilární izotachoforéza	17
Vysokoúčinná gelová chromatografie (HPGC)	18
Imunochemická separace	18
Ultracentrifugace v hustotním gradientu.....	18
Homogenní metody (přímé metody).....	18
Referenční metody	19
LDL-cholesterol.....	19
Metody stanovení	19
Výpočet koncentrace LDL-C	19
Precipitace sulfatovanými polyanionty	19
Imunoseparační metoda.....	19
Elektroforetické stanovení LDL-C.....	19
Vysokoúčinná gelová chromatografie (HPGC)	20
Referenční metoda	20
Triacylglyceroly	21
Metody stanovení	22
Neenzymové metody – princip extrakční metody	22
Lipidové indexy	23
Poruchy metabolismu lipidů (lipoproteinů)	23
Dyslipoproteinemie (DLP)	23
Specializovaná vyšetření krevních lipidů	25
Poruchy z ukládání lipidů	25
Ateroskleróza	26
Polyenové mastné kyseliny.....	27
Omega-3-nenasycené mastné kyseliny (n-3 kyseliny)	28
Omega-6 nenasycené mastné kyseliny (n-6 kyseliny)	28
Přehled lipidů	29
Kontrolní otázky	30

