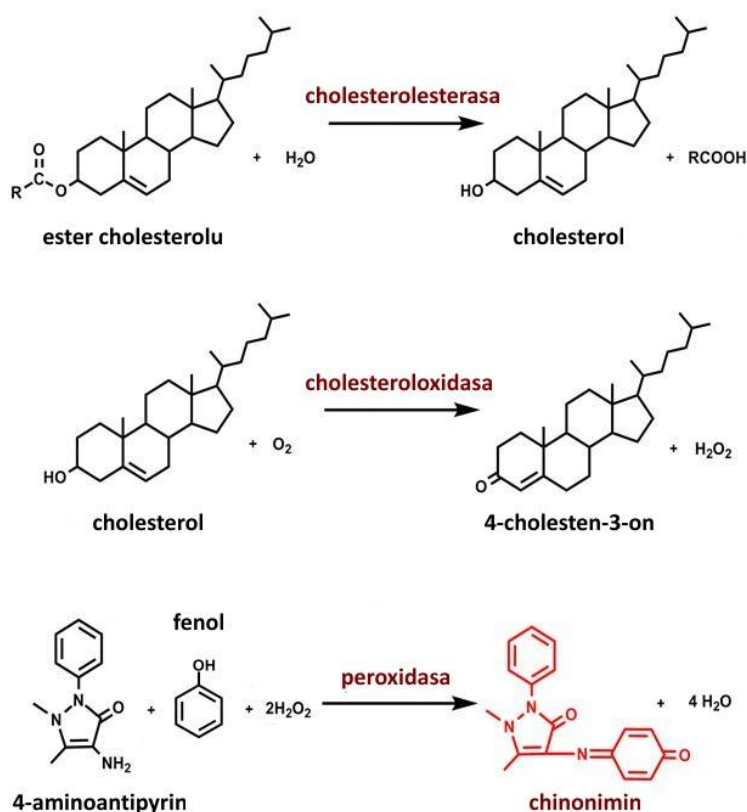


## STANOVENÍ CHOLESTEROLU

### PRINCIP METODY

Celkový cholesterol je běžně stanovován v séru (plasmě). Hydrolýza esterů cholesterolu na volný cholesterol a mastné kyseliny pomocí enzymu cholesterolesterasy předchází vlastnímu stanovení celkového cholesterolu, protože přibližně 70 % cholesterolu v séru (plasmě) je esterifikováno. Volný a esterifikovaný cholesterol ve vzorku způsobuje vznik barevného komplexu (prostřednictvím následujících reakcí popsaných níže), který je měřen spektrofotometricky.



### POMŮCKY A PŘÍSTROJE

Cholesterol Assay Kit (BioSystems S.A., Spain), zkumavky, pipeta dělená, pipeta automatická, pipetovací nástavec, kyveta, spektrofotometr SPEKOL 1300

### CHEMIKÁLIE

A. Reagent – Pipes 35 mmol/l, cholát sodný 0,5 mmol/l, fenol 28 mmol/l, cholesterolesterasa > 0,2 U/ml, cholesteroxidasa > 0,1 U/ml, peroxidasa > 0,8 U/ml, 4-aminoantipyrin 0,5 mmol/l, pH 7.

S. Cholesterol Standard – cholesterol 200 mg/dl (5,18 mmol/l)

## POSTUP

1. Vytemperujte pracovní reagent na pokojovou teplotu.
2. Pipetujte do označených zkumavek dle následující tabulky.

	BLANK zkumavka 1	STANDARD zkumavka 2	VZOREK zkumavka 3
Cholesterol Standard (S)	—	20 µl	—
Vzorek	—	—	20 µl
Destilovaná voda	20 µl	—	—
Reagent (A)	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

3. Promíchejte a 10 minut inkubujte při pokojové teplotě.
4. Odečtěte absorbanci (A) standardu a vzorku při 500 nm proti blanku.

## VÝPOČET

Koncentrace cholesterolu ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$C_{\text{vzorku}} = (A_{\text{vzorku}} / A_{\text{standardu}}) \times C_{\text{standardu}}$$

## REFERENČNÍ HODNOTY

< 5,2 mmol/l	uspokojivé
5,2 – 6,2 mmol/l	hraniční
> 6,2 mmol/l	vysoké

## KLINICKÝ VÝZNAM

Zvýšená koncentrace celkového cholesterolu: významný rizikový faktor aterosklerózy, hypotyreoidismus, nefrotický syndrom, diabetes mellitus

## VYHODNOCENÍ