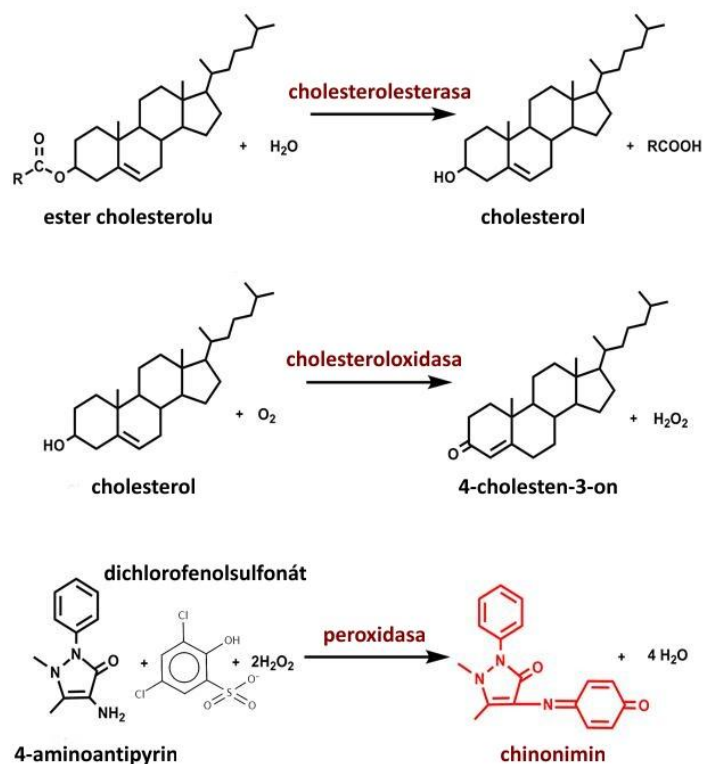


## STANOVENÍ HDL CHOLESTEROLU

### PRINCIP METODY

Lipoproteiny velmi nízké hustoty (VLDL) a nízké hustoty (LDL) ve vzorku precipitují v přítomnosti kyseliny fosfowolframové a hořečnatých iontů. Získaný supernatant obsahuje HDL částice. HDL cholesterol je poté měřen spektrofotometricky prostřednictvím níže popsanych spřažených reakcí.



### POMŮCKY A PŘÍSTROJE

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

### CHEMIKÁLIE

A. Reagent – kyselina fosfowolframová 0,4 mmol/l, chlorid hořečnatý 20 mmol/l

B. Reagent – fosfát 35 mmol/l, cholesterolesterasa > 0,2 U/ml, cholesteroxidasa > 0,1 U/ml, peroxidasa > 1 U/ml, 4-aminoantipyrin 0,5 mmol/l, cholát sodný 0,5 mmol/l, dichlorofenolsulfonát 4 mmol/l, pH 7.

S. HDL Cholesterol Standard – cholesterol 15 mg/dl (1,36 mmol/l)

## POSTUP

### PRECIPITACE

1. Pipetujte do označené zkumavky dle následující tabulky.

Vzorek	200 µl
Reagent (A)	500 µl

2. Promíchejte a 10 minut inkubujte při pokojové teplotě.
3. Centrifugujte po dobu 10 minut při 4000 rpm.
4. Opatrně odeberte supernatant.

### KOLORIMETRIE

5. Vytemperujte pracovní reagent B na pokojovou teplotu.
6. Pipetujte do označených zkumavek dle následující tabulky.

	BLANK zkumavka 1	STANDARD zkumavka 2	VZOREK zkumavka 3
HDL Cholesterol Standard (S)	—	100 µl	—
Vzorek (supernatant)	—	—	100 µl
Destilovaná voda	100 µl	—	—
Reagent (B)	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

7. Promíchejte a 30 minut inkubujte při pokojové teplotě.
8. Odečtěte absorbanci (A) standardu a vzorku při 500 nm proti blanku.

## VÝPOČET

Koncentrace HDL cholesterolu ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

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

## REFERENČNÍ HODNOTY

MUŽI	ŽENY	
15 – 60 let		
> 1,42 mmol/l	> 1,68 mmol/l	uspokojivé
0,90 – 1,42 mmol/l	1,16 – 1,68 mmol/l	hraniční
< 0,90 mmol/l	< 1,16 mmol/l	vysoké

## KLINICKÝ VÝZNAM

Neaterogenní lipoproteinová částice.

Čím nižší koncentrace HDL cholesterolu, tím vyšší riziko aterosklerózy.

## VYHODNOCENÍ