



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zdravotně sociální fakulta

Katedra laboratorních metod a informačních systémů (KLI)

Bakalářská práce

Rizikové faktory aterosklerózy

Vypracovala: Michala Mračková, DiS.

Vedoucí práce: prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

České Budějovice, 2014

ABSTRAKT

Ateroskleróza a její rizikové faktory způsobují řadu kardiovaskulárních onemocnění, která jsou příčinou úmrtnosti ve většině průmyslových zemí po celém světě. V dnešní době se do podvědomí dostávají nové nezávislé biomarkery, které by mohly v budoucnosti sloužit ke zvýšení prediktivní hodnoty současných rizikových faktorů aterosklerózy. Z tohoto důvodu byla v této bakalářské práci sledována přítomnost klasických rizikových faktorů, sloužících pro výpočet rizika fatální kardiovaskulární příhody do 10 let, a nových biomarkerů u náhodně vybraných klientů lázeňského resortu Savoy v Karlových Varech bez klinických známek aterosklerózy. Získané výsledky demonstrují, že nejčastějším rizikovým faktorem v této sledované populaci je hypercholesterolemie a pozitivní rodinná anamnéza.

Dále byla tato skupina rozdělena dle kardiovaskulárního rizika. Z výsledků uvedených v této práci vyplývá, že jen 57 % osob středního věku spadalo do malého až středního rizika, resp. < 5 % rizika, 43 % osob mělo vysoké až hodně vysoké riziko. Podle očekávání bylo vyšší procento osob s vysokým rizikem mezi muži. Populace vyšetřených žen trpěla v 35 % metabolickým syndromem, zatímco mužská populace měla metabolický syndrom v 52 %.

Závěrečná část této práce poukazuje na některé „netradiční“ rizikové faktory aterosklerózy. Ve studované populaci byla nejčastěji zvýšená koncentrace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂), méně často koncentrace lipoproteinu (a) a nejméně byla zastoupená zvýšená hladina malých denzních LDL. Patologická hodnota lipoproteinu (a) se častěji našla u žen, zatímco zastoupení zvýšené koncentrace Lp-PLA₂ bylo významně vyšší v subpopulaci mužů. Osoby s vysokým rizikem KVO měly významně vyšší koncentraci Lp-PLA₂, u dalších dvou faktorů se hladiny významně nelišily od nálezů u osob s nízkým až středním rizikem. Prediktivní hodnota Lp-PLA₂ pro výpočet rizika KVO je však velmi malá.

Klíčová slova: ateroskleróza, kardiovaskulární onemocnění, dyslipidémie, rizikový faktor, Reynoldsovo skóre

ABSTRACT

Atherosclerosis and its risk factors are bases of most cardiovascular diseases (CVD), the leading cause of morbidity and mortality in industrial countries worldwide. Recently many new, independent biomarkers have appeared which could in future serve for increasing predictive value of “classical” risk factors of atherosclerosis. That is why in our bachelor thesis we followed the occurrence of classical risk factors which are used for calculation of the risk of fatal cardiovascular event during next ten years along with several new biomarkers in a group of randomly selected clients of a spa resort Savoy in Karlovy Vary without clinical signs of atherosclerosis. The results show that the most frequent risk factor in this population was hypercholesterolemia and a positive family history of a cardiovascular disease.

The study group was divided according to the cardiovascular risk. We found that only 57 % of middle-aged persons belong to a group with the minor to medium risk, i.e. while 43 % of the followed persons had high or very high risk of CVD. According to our expectation, high percentage of persons with a high cardiovascular risk was among men. The population of women suffered from metabolic syndrome in 35 % while the men’s part of the study group had metabolic syndrome even in 52 %.

The final part of the thesis studied some “non-traditional” risk factors of atherosclerosis. In the investigated population the highest percentage showed lipoprotein-associated phospholipase (Lp-PLA₂), increased concentration of lipoprotein (a) was less frequent and the lowest incidence was found in the case of small dense LDL. Pathological levels of Lp(a) were more frequent in women while increased Lp-PLA₂ was found especially in men. Persons with high CVD risk showed higher concentration of Lp-PLA₂, the other two factors did not differ between the two groups with different risk score. Nevertheless, the predictive value of Lp-PLA₂ with respect to assessment of CVD risk was very low.

Key words: atherosclerosis, cardiovascular diseases, dyslipidemia, risk factor, Reynolds score

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....

Michala Mračková, DiS.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala prof. MUDr. Jaroslavu Rackovi, DrSc. za odborné vedení bakalářské práce a za jeho laskavý a trpělivý přístup při jejím zpracování.

Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Lucii Vejvodové a MUDr. Veronice Šoupové z biochemické laboratoře AeskuLab k. s. v Plzni za odbornou pomoc při zpracování bakalářské práce, MUDr. Danielu Rajdlovi, Ph.D. z Ústavu klinické biochemie a hematologie LF UK a FN v Plzni za pomoc se statistickým zhodnocením výsledků a prim. MUDr. Ladislavu Špišákovi, CSc. z lázeňského hotelu Savoy v Karlových Varech za poskytnutí anamnestických údajů vyšetřovaných pacientů.

OBSAH

1	ÚVOD	10
1.1	ATEROSKLERÓZA	13
1.2	PATOLOGIE ATEROSKLEROTICKÉ LÉZE	14
1.2.1	<i>Tukové proužky (fatty streaks)</i>	15
1.2.2	<i>Fibrózní pláty (ateromy)</i>	15
1.2.3	<i>Komplikované léze</i>	16
1.3	RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY	18
1.3.1	<i>Ovlivnitelné rizikové faktory</i>	19
1.3.1.1	Hyperlipoproteinemie	19
1.3.1.2	Kouření	20
1.3.1.3	Arteriální hypertenze	20
1.3.1.4	Diabetes mellitus	20
1.3.1.5	Metabolický syndrom	20
1.3.1.6	Trombogenní rizikový faktor	21
1.3.1.7	Homocystein	21
1.3.1.8	Další rizikové faktory	21
1.3.2	<i>Neovlivnitelné rizikové faktory</i>	22
1.3.2.1	Věk	22
1.3.2.2	Pohlaví	22
1.3.2.3	Genetické faktory, rodinná anamnéza	22
1.4	DYSLIPIDÉMIE	23
1.4.1	<i>Klasifikace hyperlipoproteinémie</i>	24
1.5	METABOLICKÝ SYNDROM	25
2	CÍL PRÁCE	28
3	MATERIÁLY, METODY A PŘÍSTROJE	29
3.1	CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	29
3.1.1	<i>Použité chemikálie</i>	29
3.1.2	<i>Použité přístroje</i>	30
3.2	BIOCHEMICKÉ METODY	31
3.2.1	<i>Stanovení apolipoproteinu B</i>	31
3.2.2	<i>Stanovení vysoko senzitivního CRP</i>	31
3.2.3	<i>Stanovení HDL cholesterolu</i>	32

3.2.4	<i>Stanovení HbA1c</i>	32
3.2.5	<i>Stanovení cholesterolu</i>	33
3.2.6	<i>Stanovení LDL cholesterolu</i>	33
3.2.7	<i>Stanovení sd-LDL</i>	34
3.2.8	<i>Stanovení glukózy</i>	35
3.2.9	<i>Stanovení lipoproteinů (a)</i>	35
3.2.10	<i>Stanovení kyseliny močové</i>	35
3.2.11	<i>Stanovení PLAC</i>	36
3.2.12	<i>Stanovení triglyceridů</i>	36
3.3	VÝPOČET ATEROGENNÍHO INDEXU.....	37
3.4	VÝPOČET BMI- BODY MASS INDEX.....	38
3.5	VÝPOČET A ZHODNOCENÍ CELKOVÉHO RIZIKA KARDIOVASKULÁRNÍ PŘÍHODY	38
3.6	CHARAKTERISTIKA SOUBORU PACIENTŮ.....	38
4	VÝSLEDKY	40
4.1	STUDIUM RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY PODLE REYNOLDSOVA SKÓRE	40
4.2	STUDIUM DALŠÍCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY.....	44
4.3	DIAGNOSTIKA METABOLICKÉHO SYNDROMU PODLE DEFINICE ČESKÉHO INSTITUTU METABOLICKÉHO SYNDROMU.....	46
4.4	KORELACE KLASICKÝCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ S NOVÝMI BIOMARKERY	48
5	DISKUZE	57
6	ZÁVĚR	61
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	63
8	PŘÍLOHA	69

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

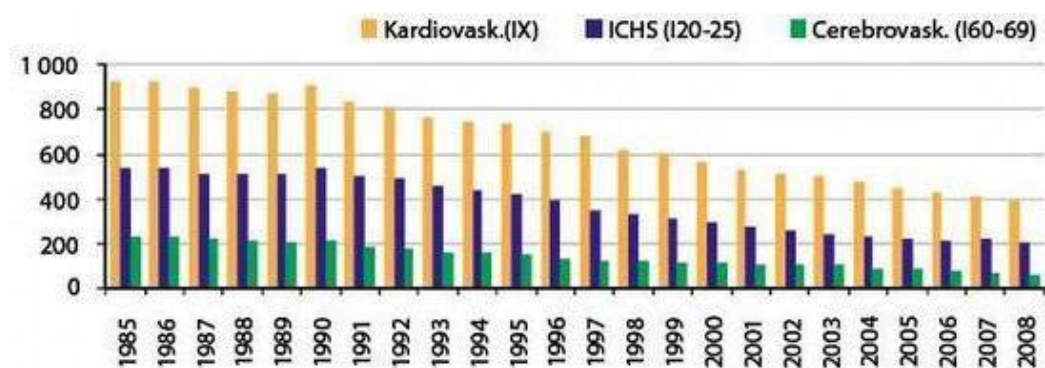
AGE	advanced glycation end-products
AI	aterogenní index
apoA-I	apolipoprotein A-I
apoB	apolipoprotein B
BMI	body mass index
CRP	C-reaktivní protein
ČIMS	Český institut metabolického syndromu
DM2	diabetes mellitus 2. typu
DPL	dyslipidémie
EAS	Evropská společnost pro aterosklerózu
GLUH	Glucose Hexokinase
HbA _{1c}	glykovaný hemoglobin
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoproteins)
HPL	hyperlipoproteinémie
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
hs-CRP	vysoce senzitivní C-reaktivní protein
CHOL/HDL	poměr cholesterol celkový/HDL- cholesterol
IDL	lipoproteiny o střední hustotě (intermediate density lipoproteins)
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL-6	interleukin 6
ISE	iontově selektivní elektroda
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoproteins)
Lp(a)	lipoprotein (a)
Lp-PLA ₂	fosfolipáza asociovaná s lipoproteinem
MONICA	Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease

MS	metabolický syndrom
MTHFHMT	metyltetrahydrofolát-homocystein-metyltransferáza (MTHFHMT)
MTHFR	metyltetrahydrofolátreduktáza
NAD ⁺	oxidovaná forma nikotinamidadeninukleotidu
NADH	redukována forma nikotinamidadeninukleotidu
PAI-1	inhibitor plazminogenového aktivátoru
PDGF	platet-derived growth factor
PEG	polyetylglykol
sd-LDL	malé denzní LDL (small dense low density lipoproteins)
TK	krevní tlak
TNF α	tumor necrosis factor alfa
TG	triglyceridy
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density lipoproteins)

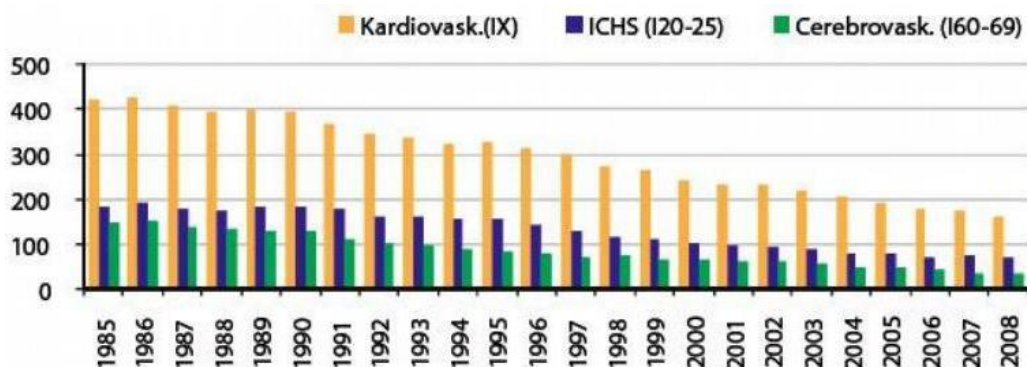
1 ÚVOD

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) je hlavní příčinou úmrtnosti ve většině průmyslových zemí po celém světě. V Evropě na KVO zemře ročně více než 4 miliony lidí (podíl KVO na celkovém úmrtí: muži 43 %, ženy 55 %), z toho 1/2 úmrtí je způsobena ischemickou chorobou srdeční a 1/3 je cévní mozkovou příhodou [Veverková et al., 2007; Cífková, 2006].

V posledních letech lze pozorovat rozdílné vývojové trendy v úmrtnosti na KVO v evropských zemích. V zemích severní, západní a jižní Evropy je zaznamenán dlouhodobý pokles úmrtnosti oproti zemím střední a východní Evropy, kde je zřejmý vzestupný trend v úmrtnosti na KVO, a to zejména v zemích bývalého Sovětského svazu. Česká republika tvoří výjimku mezi zeměmi bývalého východního bloku, kde je zaznamenán pokles úmrtnosti na KVO [Veverková et al., 2007; Cífková, 2006]. Tento pokles lze pozorovat od roku 1985 do roku 2007, kdy došlo ke snížení úmrtnosti o 66,2 % u mužů a o 65,4 % u žen. (Graf. 1; Graf. 2, str. 11) [Bruthans, 2010].



Graf. 1: Vývoj standardizované úmrtnosti muži (věková skupina 35-74 let), Převzato z <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/vliv-prevence-a-lecby-na-pokles-umrtnosti-na-ichs-analyza-efektu-skupin-farmak-454032>



Graf. 2: Vývoj standardizované úmrtnosti u žen (věková skupina 35-74 let). Převzato z <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/vliv-prevence-a-lecby-na-pokles-umrtnosti-na-ichs-analyza-efektu-skupin-farmak-454032>

Mezinárodní studie MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) probíhající v USA a v evropských zemích sledovala, zdali jsou změny v incidenci na KVO ovlivněny klasickými rizikovými faktory nebo léčebnými pokroky. Z výsledku této studie vyplývá, že k poklesu mortality přispěla jak pokročilejší koronární léčba, tak i snížení rizikových faktorů [WHO MONICA Project, 1988]. Současně byl v letech 1985-2007 vypracován tzv. IMPACT model, který byl použit v České republice pro analýzu příčin poklesu úmrtnosti na KVO. Z tohoto modelu je zřejmé, že na snížení mortality měl z rizikových faktorů největší podíl pokles hladiny celkového cholesterolu, dále farmakoterapie systolického tlaku, změna životního stylu a omezení kouření. Naopak zvyšující se počet diabetu a indexu tělesné hmotnosti (BMI) způsobil mírný nárůst mortality [Bruthans, 2010].

Evropská kardiologická společnost ve spolupráci s ostatními odbornými evropskými společnostmi vytvořila Evropská doporučení pro prevenci KVO v klinické praxi, která doporučují používat model a tabulky rizika SCORE pro výpočet rizika KVO. Tento multifaktoriální model (algoritmus) SCORE bere v úvahu hlavní rizikové faktory podobně jako původní framinghamské skóre a jeho výsledek rozhoduje, zda realizovat razantní preventivní intervenci u dotyčného pacienta. Za vysoké riziko KVO je považována hodnota $\geq 5\%$ SCORE (tzn. pravděpodobnost úmrtí na kardiovaskulární onemocnění v následujících 10 letech $\geq 5\%$). [Cífková et al., 2005; Češka, 2012]

Hlavní rizikové faktory lze ovlivňovat především preventivním podáváním některých léků a změnou životosprávy. Touto prevencí lze signifikantně eliminovat invalidity a předčasná úmrtí u rizikových jedinců [Cífková et al., 2005].

V současné době se do předmětu zájmu dostávají nové nezávislé biomarkery kardiovaskulárního rizika, které by mohli v budoucnosti sloužit ke zvýšení prediktivní hodnoty současných rizikových faktorů aterosklerózy. Hlavními z těchto biomarkerů jsou hs-CRP, parametr důležitý pro posouzení zánětlivé složky aterogeneze, a fosfolipáza A₂ asociovaná s lipoproteiny (Lp-PLA₂), mající vztah k nestabilitě ateromového plátu při oxidačním stresu a vaskulárním zánětu. [Franeková, 2010].

1.1 ATEROSKLERÓZA

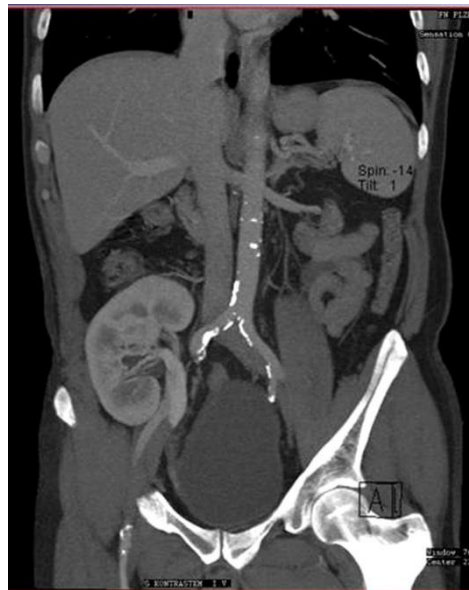
Jedním z nejvýznamnějších zdravotních problémů dnešní moderní civilizace je ateroskleróza a její rizikové faktory. Již v historii byly dokumentovány aterosklerotické změny na egyptských mumiích z 15. století před n. l. Také CT vyšetření „ledového muže“ (kompletně zachovalé tělo v ledovci v Jižním Tyrolsku) prokázalo poškození karotid i s kalcifikacemi. Podrobnějším sledováním aterosklerotických změn se jako jeden z prvních zabýval Leonardo da Vinci [Češka, 2012].

Původní představa o vzniku aterosklerózy byla taková, že se jedná o mechanické poškození endotelu cévy s následným hromaděním tuků. V dnešní době je vnímána jako imunitně zánětlivý proces vznikající jako odpověď na poškození intimy cévy [Češka, 2012].

Na vzniku zánětu v procesu aterogeneze se v první řadě podílí oxidované lipoproteiny, především LDL, které vznikají během procesu oxidační modifikace v intimě cévy po navázání na proteoglykany. Aby mohly LDL částice pronikat do cévní stěny, musí dojít k poškození endotelu a jeho funkce (endotelová dysfunkce). Ta může být vyvolána mechanickým poškozením cévní stěny (např. hypertenzí) či toxickým poškozením cév (např. homocysteinem, kouřením, samostatnými oxidovanými LDL částicemi). Pravidelně se endotelová dysfunkce vyskytuje u diabetiků, a to hlavně 2. typu, kdy hyperglykémie vede ke vzniku AGE (advanced glycation end-products), které zvyšují produkci cytokinů v endoteliálních buňkách. U pacientů trpících obezitou centrálního typu se zmnožením viscerálního tuku hrají roli nejen vznikající inzulinová rezistence, diabetes a diabetická dyslipidémie, ale hlavně cytokiny jako je tumor necrosis factor alfa (TNF α) a interleukin 6 (IL-6), produkované samotnou tukovou tkání. Zvýšená hladina malých denzních LDL (sd-LDL) je mnohdy spojována s metabolickým syndromem. Jako významný stimul pro vznik zánětu je někdy uváděna přítomnost některých virů a bakterií např. *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, herpes simplex virus nebo cytomegalovirus [Češka, 2012; Racek, 2010].

1.2 PATOLOGIE ATEROSKLEROTICKÉ LÉZE

Aterosklerotické změny nacházíme především na koronárních arteriích, hrudní aortě, arteria poplitea, vnitřní karotické arterii a tepnách Willisova okruhu. Mezi koronárními tepnami je aterosklerózou nejčastěji postižena tepna ramus interventrikularis anterior u 58 % nemocných s ICHS, následuje ji v 33 % pravá koronární tepna, u ramus cirkumflexus se aterosklerotické změny nachází pouze v 25 % a nejméně často dochází k postižení kmene levé koronární arterie v 16 % (Obr. 1) [Češka, 2012].



Obr. 1: Aterosklerotické postižení břišní aorty a jejích větví na CT obraze (kalcifikace jako bílé skvrny) [Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN v Plzni]

Na základě patologicko-anatomického hlediska rozlišujeme tři základní formy aterosklerózy [Češka, 2012]:

- časné léze, tukové proužky
- fibrózní a ateromové pláty
- komplikované léze

1.2.1 Tukové proužky (fatty streaks)

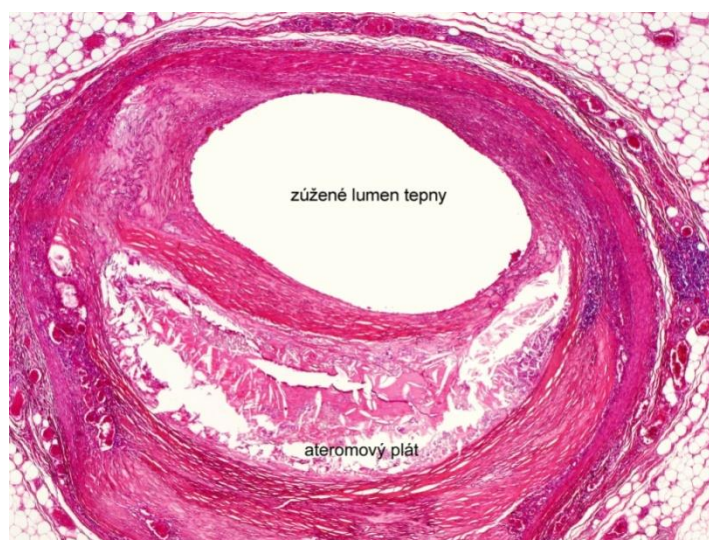
Jsou nejčastější formou aterosklerózy vyskytující se běžně již v dětském věku, dokonce je lze někdy prokázat i u kojenců [Urbanová et al., 2008]. Makroskopicky se jeví jako proužky žluté barvy vyskytující se v intimitě velkých cév, které neprominují do lumina arterie a neovlivňují tak průtok krve (Obr. 2). Základním stavebním kamenem jsou pěnové buňky, které vznikají z monocytů nebo z buněk hladkých svalů a T lymfocytů [Češka, 2012; Žák et al., 2011].



Obr. 2: Mírná ateroskleróza (tukové proužky) [Šiklův patologicko-anatomický ústav LF UK a FN Plzeň, prim. MUDr. Petr Mukenšnábl, Ph.D.]

1.2.2 Fibrózní pláty (ateromy)

Na rozdíl od tukových proužků jsou to veliká, ostře ohraničená, tužší, někdy až chrupavčitá ložiska různého zabarvení (žlutá nebo šedá v závislosti na obsahu tuků) ve velkých cévách. Způsobují ztlustění cévní stěny, vyklenují se do lumina a stávají se příčinou částečné nebo úplné obstrukce lumina cévy (Obr. 3, str. 16). Jejich stavebním kamenem jsou proliferující buňky hladkých svalů a makrofágů různých stupňů přeměny na pěnovou buňku, tukové vakuoly a lymfocyty [Češka, 2012; Žák et al., 2011].

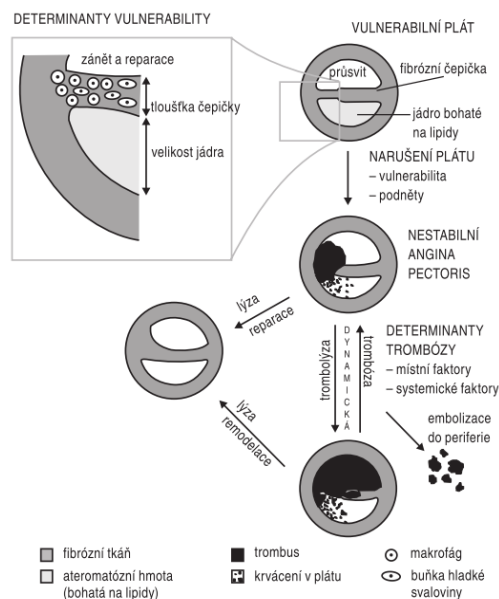


Obr. 3: Ateroskleróza cévy – histologický obraz fibrózního plátu s ateromovým ložiskem [Šiklův patologicko-anatomický ústav LF UK a FN Plzeň, prim. MUDr. Petr Mukenšnábl, Ph.D.]

1.2.3 Komplikované léze

Vznikají z fibrózních plátů jejich masivní kalcifikací a těžkými degenerativními změnami, které se stávají místem organizace trombu. Vzniklá trombóza je příčinou cévního uzávěru. K posouzení aterosklerotických plátů slouží podrobnější klasifikace: podle American Heart Association se dělí do 6 typů: typy I-III se nazývají **prekurzorové léze**, typy IV-VI **léze vyvinuté** [Češka, 2012].

U léze **typu I** je charakteristický výskyt pěnových buněk. Po jejich smrti uvolňují makrofágy nebo pěnové buňky velké množství produktů, např. oxidované LDL a volné radikály, které mají za následek další poškození endotelu. Na poškozený endotelový povrch působí PDGF (platelet-derived growth factor), což je produkt trombocytů, makrofágů i samotných poškozených buněk, který stimuluje proliferaci buněk hladkého svalstva a syntézu extracelulárního matrixu. V lézi **typu II** se nachází vedle makrofágů depozita extracelulárních lipidů a buňky hladkého svalstva. V **lézi III** dochází k akumulaci extracelulární vazivové tkáně, fibril a lipidových depozit. Tyto časné aterosklerotické léze představují dynamický stav vstupu a výstupu LDL a tvorby extracelulární matrix. Základem **léze IV** jsou buněčné léze s extracelulárními depozity lipidů a vazivovou tkání. U **léze typu V** je extracelulární lipidové jádro pokryté fibrózní čepičkou. Typy IV a V jsou velice rizikové a náchylné k disrupci (Obr. 4, str. 17) [Gandalovičová, 2002; Češka, 2012; Žák et al., 2011].



Obr. 4: Determinanty vulnerability plátu. Převzato z <http://www.solen.cz/pdfs/int/2002/02/07.pdf>

Způsobují 2/3 všech akutních koronárních syndromů (Obr. 5, str. 18). Pacienti jsou asymptomatictí a pláty se při koronarografii nezobrazují. Během akutní komplikované léze typu VI dochází k formulaci murálního trombu, který neuzavře arterii úplně, nebo k úplnému uzavření průsvitu arterie vedoucí k akutnímu koronárnímu syndromu. K destabilizaci plátu může docházet v důsledku působení řady vnitřních a vnějších faktorů (např. těžká fyzická práce nebo emoční stres), kdy dochází k vzestupu hladiny katecholaminu, krevního tlaku a srdeční frekvence [Gandalovičová, 2002; Češka, 2012; Žák et al., 2011].



Obr. 5: *Komplikovaná léze (břišní aorta s bifurkací) [Šiklův patologicko-anatomický ústav LF UK a FN Plzeň, prim. MUDr. Petr Mukenšnábl, Ph.D.]*

K poškození aterosklerotického plátu může dojít dvěma způsoby. V prvním případě se jedná o stav, který je způsobený erozí nebo odhalením endotelu a následnou tvorbou povrchového trombu. Tento mechanismus je zprostředkován makrofágy, které byly aktivované v intímě v zánětlivém procesu. Pouze sporadicky dochází k erozi endotelu bez zmíněné zánětlivé reakce, a to u mladých kuřáček, diabetiků nebo u již existující stenózy a menšího průsvitu cévy. Druhý případ poškození aterosklerotického plátu je příčinou asi 85 % koronárních trombóz mužů s vysokými hladinami LDL, bez diabetu a s minimální stenózou. V místě oslabeného fibrózního povrchu dochází k vzniku trhlinky nebo diskretnímu narušení plátu, což má za následek trombózu, expanzi plátu a intraluminální trombózu [Gandalovičová, 2002].

1.3 RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY

Během několika posledních let byly popsány desítky až stovky rizikových faktorů aterosklerózy. Rizikový faktor je proměnná, která je v prospektivních studiích statisticky významným ukazatelem k později se manifestující chorobě, aniž by musela být jeho příčinou [Češka, 2012]. Rizikové faktory lze dělit z několika hledisek, nejobvyklejší je dělení na rizikové faktory ovlivnitelné a neovlivnitelné (Obr. 6, str. 19).



Obr. 6: Rizikové faktory aterosklerózy [Češka 2012].

1.3.1 Ovlivnitelné rizikové faktory

Mezi tři nejdůležitější ovlivnitelné rizikové faktory ICHS a předčasné aterosklerózy patří hyperlipoproteinémie, kouření cigaret a arteriální hypertenze. Dalšími významnými rizikovými faktory je diabetes mellitus, obezita, metabolický syndrom, trombogenní dispozice, nízká fyzická aktivita a homocystein [Racek, 2006; Češka, 2012].

1.3.1.1 Hyperlipoproteinemie

Není zcela jednoduché stanovit normy pro cholesterol ani další lipidové parametry. Z toho důvodu vycházíme z celkového (globálního) kardiovaskulárního rizika. Norma celkového, resp. LDL-cholesterolu:

- Běžná populace: méně než 5 mmol/l, resp. 3 mmol/l
- Rizikový pacienti: méně než 4,5 mmol/l, resp. 2,5 mmol/l
- Nejrizikovějších nemocných: méně než 4 mmol/l, resp. 2 mmol/l,

Sérové koncentrace HDL-cholesterolu pod 1 mmol/l představují významný rizikový faktor ICHS. Dříve vítané vysoké koncentrace HDL mohou být při překročení hodnoty 2 mmol/l (nejen známkou zvýšené konzumace alkoholu) spojeny s vyšším rizikem KVO. Za normální koncentraci triglyceridů považujeme hodnotu pod 1,7 mmol/l. V případě vyšších koncentrací triglyceridů nastává změna distribuce LDL částic ve prospěch tzv.

malých denzních LDL, které mají veliký aterogenní potenciál. Zvýšená sérová koncentrace apolipoproteinu B a snížení apolipoproteinu A-I je spojeno s vyšším rizikem ICHS. Významné postavení má mezi lipidy a lipoproteiny lipoprotein (a), který tvoří samostatný a na ostatních parametrech lipidového metabolismu nezávislý rizikový faktor aterosklerózy. Lp (a) má důležitou roli v trombogenezi [Češka, 2012].

1.3.1.2 Kouření

Kouření cigaret a doutníků výrazně zvyšuje výskyt ICHS i úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění a je rizikem dalších potenciálně smrtících chorob (např. rakovina rtu, jazyka) [Žák et al., 2011].

1.3.1.3 Arteriální hypertenze

Arteriální hypertenze > 140/90 mm Hg patří mezi tři nejvýznamnější rizikové faktory aterosklerózy. Léčba arteriální hypertenze vede k snížení výskytu cévních mozkových příhod a snížení výskytu ICHS [Češka, 2012].

1.3.1.4 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus, inzulínovou resistenci, hyperinzulinismus i porušenou glukózovou toleranci dohromady pojí předčasná manifestace aterosklerózy. Významně se na tom podílí i současně se vyskytující poruchy tukového metabolismu, obezita, někdy arteriální hypertenze (např. jako součást metabolického syndromu), hyperinzulinémie a glykace proteinů [Zima, 2012; Masopust, 2011].

1.3.1.5 Metabolický syndrom

Jedinci trpící metabolickým syndromem jsou v důsledku kombinace několika rizikových faktorů významně ohroženi vysokým rizikem KVO. Laboratorně lze sledovat vysoké triglyceridy, nízký HDL-cholesterol a velké procento „malých denzních“ LDL částic [Zima, 2012]. Zpravidla bývá přítomna i vyšší glykémie nalačno nebo porucha glukózové tolerance [Češka, 2012].

1.3.1.6 Trombogenní rizikový faktor

Laboratorní nález zvýšené hladiny fibrinogenu je samostatným nezávislým rizikovým faktorem ICHS. Vztah k aterogenezi mají další parametry jako PAI-1 (inhibitor plazminogenového aktivátoru) či faktor VIII, jejichž vztah k ateroskleróze a trombóze se zatím zkoumá [Češka, 2012].

1.3.1.7 Homocystein

Jedná se o neesenciální aminokyselinu obsahující ve své molekule síru, která se významně podílí na metabolismu cysteinu a methioninu. Pro správný metabolismus homocysteinu je důležitá přítomnost tří enzymů (metyltetrahydrofolátreduktáza (MTHFR), metyltetrahydrofolát-homocystein-metyltransferáza (MTHFHMT), cystathioninsyntáza) a tří vitamínů (koenzymů): kyseliny listové (metyltetrahydrofolát), vitamínu B12 (metylcyanokobalamin) a vitamínu B6 (pyridoxalfosfát). Pokud vznikne defekt v některém z výše zmíněných enzymů nebo koenzymů, dochází k hromadění homocysteinu v organismu [Voet, 1995].

Není zcela znám mechanismus, kterým homocystein vyvolává cévní změny. Podle nejnovějších poznatků ovlivňuje produkci oxidu dusnatého (NO) a tím podporuje vazokonstrikci. Dochází k inaktivaci enzymu degradující asymetrický dimethylarginin (kompetitivní inhibitor syntázy NO), který se hromadí v organismu [Racek, 2006].

Zvýšená hladina homocysteinu v plazmě (tzv. hyperhomocysteinémie) je spojována se zvýšeným rizikem KVO, ICHS, tromboembolických nemocí, ale má nejspíše vztah i k hypertenzi, inzulínové resistenci, Alzheimerově chorobě, demenci a depresivním poruchám. Laboratorně stanovujeme celkový homocystein, tzn. volnou i vázanou frakci dohromady. V preanalytické fázi je důležité dodržet správný postup zpracování vzorku, a to oddělit sérum či plazmu od krvinek, aby nedošlo k přechodu homocysteinu z krvinek do plazmy respektive séra [Češka, 2012].

1.3.1.8 Další rizikové faktory

Za rizikový z hlediska ICHS se považuje i sedavý styl života spojený s nedostatkem pohybové aktivity. Lze konstatovat, že z hlediska KVO je lepší, pokud je pacient s obezitou fyzicky aktivní, než když je štíhlý jedinec fyzicky neaktivní.

Rizikovitost ICHS se dává do spojitosti i s dosaženým stupněm vzdělání. Vysokoškoláci mají nižší riziko ICHS než skupina méně edukovaných obyvatel [Češka, 2012; Žák et al., 2012].

1.3.2 Neovlivnitelné rizikové faktory

Mezi neovlivnitelné rizikové faktory zahrnujeme věk, pohlaví a genetické faktory. Faktory rasové vycházejí především ze studií v USA a nejsou zcela vyřešeny; někdy lze jen velmi těžko odlišit interferenci vlivu prostředí s vrozenou dispozicí u různých skupin obyvatel. Zdá se, že černoši mají vyšší riziko rozvoje ICHS než běloši a hispánci (obyvatelé španělského původu v USA) mají navzdory vysoké prevalenci a obezity riziko ICHS nižší [Češka, 2012].

1.3.2.1 Věk

Ateroskleróza obecně patří mezi dlouhodobé procesy, proto její manifestace roste s věkem. Z hlediska ICHS je u mužů rizikový věk 45 let a vyšší, u žen 55 let a vyšší [Žák et al., 2011].

1.3.2.2 Pohlaví

Celosvětově je obecně prokázáno a akceptováno, že muži mají vyšší riziko aterosklerózy než ženy před menopauzou. Riziko narůstá u žen po menopauze bez substituční léčby estrogeny. Příčinou je protektivní efekt estrogenů, související s vyššími koncentracemi HDL u žen [Češka, 2012].

1.3.2.3 Genetické faktory, rodinná anamnéza

Jako pozitivní rodinnou anamnézu z hlediska předčasné aterosklerózy považujeme výskyt KVO u otce ve věku nižším než 55 let nebo výskyt KVO u matky ve věkové hranici do 65 let [Veverková et al., 2007].

1.4 DYSLIPIDÉMIE

Dyslipoproteinémie nebo také dyslipidémie (DPL) a hyperlipoproteinémie (HPL) tvoří skupinu metabolických onemocnění, která jsou typická zvýšenou hladinou lipoproteinů a lipidů v plazmě [Češka, 2012].

Hyperlipoproteinémie (HLP) je důsledkem zvýšené syntézy nebo sníženého katabolismu lipoproteinových částic, které se účastní transportu tuků (triglyceridy, fosfolipidy, mastné kyseliny, cholesterol). Na základě příčiny dělíme tato onemocnění na primární samostatné geneticky podmíněné choroby a sekundární, která jsou průvodním znakem základního onemocnění [Češka, 2012].

Sekundární hyperlipoproteinémie vznikají jako důsledek základního onemocnění (např. štítné žlázy, ledvin, při diabetu), ale jsou známy i dyslipidémie u osob s obezitou, u alkoholiků nebo medikovaných osob (betablokátory, hormonální kontraceptiva). V klinické praxi je jejich výskyt oproti primární HLP minimální. Přesto mohou vést ke stejným komplikacím jako primární HLP, tj. ateroskleróze, akutní pankreatitidě, k šlachovým nebo kožním xantomům nebo xanthelasma palpebrarum.

HLP vedou k izolovanému zvýšení cholesterolu či triglyceridů, ale také mohou směřovat ke zvýšení triglyceridů a cholesterolu současně. Při diagnostikování hyperlipoproteinémie musí být nejprve vyloučena sekundární příčina. Jejím odhalením můžeme hyperlipoproteinémií kauzálně odstranit [Češka et al., 2004; Češka, 1999].

Primární hyperlipoproteinémie jsou dědičné, geneticky podmíněné poruchy metabolismu lipoproteinů. V populaci primární HPL převažují nad sekundárními HPL. V dnešní době se při klasifikaci hyperlipoproteinémií snažíme respektovat etiopatogenezi poruchy a zakládáme ji na rozpoznání základních genetických defektů. [Češka, 2004].

Dělení HLP a DLP na primární a sekundární podle dnešních poznatků špatně vystihuje mechanismus vzniku odchylky, jelikož se na manifestaci většiny z nich podílí genetika v kombinaci s faktory vnějšího prostředí a dalšího onemocnění. Z toho důvodu by bylo vhodné zavést novou skupinu HLP/DLP smíšené etiologie. Ty mají genetický podklad, ale k jejich manifestaci je potřebná i další příčina, jako třeba DM 2. typu, viscerální obezita atd. [Češka, 2012; Veverková et al., 2007].

1.4.1 Klasifikace hyperlipoproteinémie

Dyslipidémie je možno rozdělovat podle řady hledisek a kritérií. Fenotypová (Fredricksonova) klasifikace je založena na elektroforéze lipoproteinů na papíře, která byla prvním moderním přístupem v klasifikaci poruch lipoproteinového metabolismu. Rozdělovala hyperlipoproteinémie do pěti (později šesti) typů označovaných jako typ I-V (po rozdělení typu II, IIa a IIb), (Tab. 1). V současné době se od ní již v klinické praxi upouští, jelikož poukazuje pouze na aktuální stav lipidového a lipoproteinového metabolismu [Češka, 2012].

Tab. 1: Klasifikace dislipidémie: Fredricksonova (WHO) klasifikace [Upraveno podle Češka, 2012]

Fenotyp	Zvýšený lipoprotein	Cholesterol v séru	TG v séru	Aterogenicita	Prevalence
I	Chylomikrony	norma - ↑	↑↑↑↑	nepozorována	vzácné
IIa	LDL	↑↑	norma	+++	běžné
IIb	LDL a VLDL	↑↑	↑↑	+++	běžné
III	IDL	↑↑	↑↑↑	+++	střední
IV	VLDL	norma - ↑	↑↑	+	běžné
V	VLDL a chilomikrony	norma - ↑	↑↑↑↑	+	vzácné

Vysvětlivky: LDL - lipoproteiny o nízké hustotě; IDL - intermediární částice; VLDL - lipoproteiny o velmi nízké hustotě. (Hladiny HDL/lipoproteiny o vysoké hustotě/ cholesterolu nejsou ve Fredricksonově klasifikaci uvažovány).

V klinické praxi je nejrozšířenější klasifikace Evropské společnosti pro aterosklerózu z roku 1992, která je jednoduchá a pro praxi v zásadě dostatečná. EAS dělí hyperlipoproteinémie na hypercholesterolémii, kombinovanou (smíšenou) hyperlipidémii a hypertriglyceridémii (Tab. 2) [Češka, 2012].

Tab. 2: Klasifikace HLP (EAS 1992) [Upraveno podle Češka 2012]

Hypercholesterolémie	LDL
Kombinovaná HPL, CH + TG	LDL + VLDL
Hypertriglyceridémie	VLDL

Dnes je stále častěji skloňována i genetická klasifikace hyperlipoproteinemií z důvodu stále častější zjišťovaného genetického podkladu hyperlipoproteinemií.

Většina genetických poruch je podmíněna polygenně a na její manifestaci se podílí i zevní prostředí. Zvýšené množství podkožního a viscerálního tuku může, ale nemusí být provázeno zvýšenými koncentracemi lipidů a lipoproteinů v plazmě. Představa o rovnítku mezi obezitou a HLP je zcela mylná [Žák et al., 2011].

1.5 METABOLICKÝ SYNDROM

Metabolický syndrom je někdy nazývaný jako syndrom inzulinové resistance, syndrom X, mnohočetný metabolický syndrom, Reavenův syndrom, smrtící kvarteto nebo familiární dyslipidemická hypertenze. U pacientů s metabolickým syndromem nacházíme inzulinovou resistenci, porušenou glukózovou toleranci bez manifestního diabetu a řadu rizikových faktorů (obezita centrálního typu, arteriální hypertenze, DLP, hyperinzulinémie atd.). Metabolický syndrom se vyvíjí v čase u jedinců s genetickou zátěží při nevhodném životním stylu, tj. nadměrném energetickém příjmu, nedostatečné pohybové aktivitě, stresu a kouření. Genetickou predispozici lze zjistit z rodinné anamnézy, pokud někdo z rodičů prodělal v časném věku kardiovaskulární příhodu, nebo je jeden z rodičů hypertonik nebo diabetik 2. typu. [Češka, 2012; Karen et al., 2010]

První představa o metabolickém syndromu byla formulována Reavenem v roce 1988 popsáním tří základních faktorů: vyšší krevní tlak a dyslipidémie (vyšší hladina triglyceridů nebo cholesterolu) a nižší koncentrace HDL cholesterolu. Vývoj metabolického syndromu je závislý na životním stylu, věku a genetické predispozici [Češka, 2012; Karen et al., 2010]. V minulosti se používaly různé definice pro stanovení přítomnosti metabolického syndromu. Jedna z prvních byla založena na přítomnosti inzulinové resistance nebo porušené homeostázy glukózy. V roce 2001 byla vytvořena výstižnější kritéria preferovaná při primární prevenci KVO a diabetu druhého typu. Tato kritéria pro rozpoznání metabolického syndromu nemusí být z počátku spojena s porušeným metabolismem glukózy, ale jsou přítomny tři nebo více z uvedených faktorů (obvod pasu, hladina triglyceridů nalačno, HDL- cholesterol, vyšší glykémie nalačno, vyšší TK). Nová definice metabolického syndromu vznikla v roce 2005, kdy byl metabolický syndrom definován přítomností tzv. abdominální obezity. V roce 2009 se zástupci významných odborných společností pro kardiovaskulární choroby podepsali

pod definici, kdy bylo všech pět kritérií postaveno zpět na stejnou úroveň, přičemž obvod pasu je specificky definován pro různé populace a země. Na základě těchto definic vytvořil Český institut metabolického syndromu, založený v r. 2005 a registrovaný od května 2008 jako obecně prospěšná společnost (ČIMS, o.p.s.) definici pro přítomnost metabolického syndromu. (Tab. 3) [Karen et al., 2010; Češka, 2012].

Tab. 3: Definice metabolického syndromu podle Českého institutu metabolického syndromu, o.p.s. Při přítomnosti tří a více z uvedených pěti rizikových faktorů se jedná o metabolický syndrom [Upraveno podle Karen et al. 2010]

zvětšený obvod pasu (definice podle populace a země) muži ≥ 102 cm ženy ≥ 88 cm
\uparrow TRIG $\geq 1,7$ mmol/l nebo medikamentózní léčba hypertriglyceridémie
HDL-cholesterol: muži $< 1,0$ mmol/l, ženy $< 1,3$ mmol/l nebo medikamentózní léčba nízkého HDL
TK syst. ≥ 130 mm Hg a / nebo TK diastol. ≥ 85 mmHg nebo antihypertenzní léčba již diagnostikované hypertenze
glykémie nalačno $\geq 5,6$ mmol/l nebo porušená glukózová tolerance nebo diabetes 2. typu

U jedinců s metabolickým syndromem se v první řadě doporučuje řešit problematiku obezity a nadváhy. Jde o závažné chronické onemocnění, postihující metabolismus a funkci orgánových systémů, v první řadě pohybového a kardiovaskulárního [Karen et al., 2010; Češka, 2012].

Inzulinová rezistence a hyperglykémie jsou typickou součástí metabolického syndromu. Jelikož diabetes mellitus významně zvyšuje riziko KVO, doporučuje se u pacientů sledovat hodnoty glykémie nalačno a glykovaného hemoglobinu.

U jedinců s metabolickým syndromem je koncentrace celkového cholesterolu v normě, nebo mírně zvýšena. Oproti tomu nacházíme zvýšenou hladinou triglyceridů, zvýšení LDL-cholesterolu (aterogenní frakce tzv. malých denzních LDL), zvýšení hladiny apolipoproteinu a snížení HDL-cholesterolu.

Významnou roli hraje hypertenze. Léčba pacienta musí být individuální s ohledem na přidružená onemocnění. Pacienti s metabolickým syndromem se

automaticky řadí do pásma vysokého a velmi vysokého rizika, a proto je u nich indikována farmakoterapie často již u vysokého normálního TK, tj. systolický TK 130-139 mm Hg a diastolický TK 85-89 mm Hg. Základní režimová opatření zůstávají hlavním předpokladem úspěšné prevence KVO v rámci metabolického syndromu spojeného s hypertenzí [Karen et al., 2010; Češka, 2012].

Vyšší sklon k trombogenezi, která významně zvyšuje riziko KVO následkem porušené hemostázy, tj. nerovnováhy mezi koagulačním a fibrinolytickými procesy, je typickým nálezem u pacientů s metabolickým syndromem [Karen et al., 2010].

Pacienti trpící metabolickým syndromem jsou v důsledku kombinace několika rizikových faktorů významně ohroženi vysokým rizikem KVO. Vhodná zvolená medikace snižuje nárůst infarktu myokardu, včetně mikrovaskulárních komplikací (retinopatie, neuropatie, nefropatie). Prevence a léčba KVO onemocnění u metabolického syndromu je ve shodě s recentními doporučeními českých odborných společností [Karen et al., 2010; Češka, 2012].

2 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo stanovit riziko fatální kardiovaskulární příhody do 10 let u skupiny náhodně vybraných pacientů. Tato studie byla sestavena z náhodně vybraných mužů a žen středního věku, kteří přijeli absolvovat lázeňskou léčbu v karlovarském lázeňském hotelu Savoy pod lékařským dohledem prim. MUDr. Ladislava Špišáka, CSc. a zároveň neměli žádné klinické známky aterosklerózy. V rámci této bakalářské práce bylo provedeno:

- Vyšetření rizikových faktorů aterosklerózy potřebných pro výpočet rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO) podle Reynolds SCORE.
- Stanovení rizikových faktorů aterosklerózy, které nejsou součástí výpočtu skóre, ale významně ovlivňují rozvoj aterosklerózy.
- Diagnostika metabolického syndromu dle definice Českého institutu metabolického syndromu.
- Analýza nových biomarkerů kardiovaskulárního rizika bez ohledu na riziko KVO podle skóre:
 - malé denzní LDL, sd-LDL
 - fosfolipáza asociovaná a lipoproteinem, Lp-PLA₂
 - Lipoprotein (a), Lp(a)
- Korelace klasických rizikových faktorů používaných pro výpočet Reynoldsova skóre s novými biomarkery a zhodnocení úlohy nových rizikových faktorů a srovnání jejich výskytu v jednotlivých skupinách rizika KVO, rozdělených podle Reynoldsova skóre.

3 MATERIÁLY, METODY A PŘÍSTROJE

3.1 CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

3.1.1 Použité chemikálie

Chemikálie, které byly použity při vypracování této bakalářské práce, pocházejí z následujících zdrojů:

- **Bio-Rad, USA:** Liquichek Immunology Control – Level 1/2/3, Lyphocek Assayed Chemistry Control – Level ½, D-10TM systém na testování hemoglobinu
- **diaDexus, Inc, USA:** diagnostická souprava PLAC test Activity kit (Reagencie, Kalibrátor, Kontrola)
- **Penta, Česká republika:** chlorid sodný
- **Randox, Velká Británie:** diagnostická souprava small density LDL (sLDL, sLDL Cal, sLDL Control)
- **Siemens Healthcare Diagnostics, USA:**
 - **diagnostická souprava:** Apolipoprotein B (APO B), Glucose Hexokinase II (GLUH), HDL cholesterol přímý (D-HDL), Cholesterol_2 (CHOL_2), LDL cholesterol přímý (DLDL), Lipoprotein a (LPA), Uric_Acid (UA), High Senzitivity CRP, Triglyceridy (TRIG)
 - **kalibrační roztok:** ADVIA Chemistry Apolipoprotein A1/B Calibrator, Siemens Chemistry Calibrator, ADVIA Chemistry HDL/LDL Cholesterol Calibrator, ADVIA Chemistry Lipoprotein (a) Calibrator, CRP Adjustors (LCRL,LCRH)
 - **kontrolní roztok:** CRP Control sensitivní

3.1.2 Použité přístroje

Analytické váhy: Satorius, Gottingen

Analyzátory:

- **ADVIA 1800 Chemistry System, Siemens Healthcare Diagnostics** - automatický biochemický analyzátor určený pro diagnostické použití *in vitro*. Analyzátor je opatřen měřicími moduly pro absorpční spektrofotometrii, turbidimetrii a potenciometrické měření iontově selektivními elektrodami (ISE). ADVIA 1800 vyšetřuje vzorky lidského séra, plazmy a moče v režimech random access, po metodách a statimových vzorkách s kapacitou fotometrických testů 1200 a 600 ISE testů za hodinu. Nedílnou součástí analyzátoru je datová stanice skládající se z PC, LCD monitoru, tiskárny, softwaru, klávesnice a myši [Uživatelský manuál ADVIA 1800].
- **D-10, Bio-Rad** – HPLC analyzátor určený k separaci a zjištění relativního procenta specifických hemoglobinů v plné krvi [Uživatelský manuál D-10].
- **Immulite 2000, Siemens Healthcare Diagnostics** - automatický imunochemický analyzátor měřící na principu chemiluminiscence. Analyzátor umožňuje *in vitro* měřit vzorky biologických tekutin. Maximální výkon analyzátoru dosahuje 200 testů za hodinu. Součástí analyzátoru je dotyková LCD obrazovka, software, klávesnice a myš. [Uživatelský manuál Immulite 2000].

Centrifuga: MPW-223e, Unimed

Kalibrované skleněné pipety

3.2 BIOCHEMICKÉ METODY

3.2.1 Stanovení apolipoproteinu B

Apolipoprotein B tvoří hlavní složku proteinové částice všech lipoproteinů mimo HDL (high-density lipoproteins, HDL). Jeho hlavní funkcí je tvorba a uvolňování lipoproteinů do plazmy a interakce s LDL receptory periferních buněk. Tím se účastní rozpoznání buněčných receptorů významných pro katabolismus LDL. Existuje souvislost mezi vznikem aterosklerózy koronárních tepen a abnormálními koncentracemi lipoproteinů. Jelikož je apolipoprotein B specifickým markerem pro klasifikaci a identifikaci lipoproteinů, je nejvýznamnějším ukazatelem strukturní integrity a funkční specifity lipoproteinů. Hladina apolipoprotein B je lepším indikátorem závažnosti a rozsahu stenózy koronárních tepen než celkový cholesterol a triglyceridy. Abnormální hodnoty apolipoprotein B nacházíme při dyslipoproteinémii, cukrovce dospělého typu, onemocnění jater včetně steatózy jater a hepatitidy.

V této práci bylo použito imunoturbidimetrické stanovení podporované polyethylenglykolem (PEG). Specifické antisérum tvoří s apolipoproteinem B ze vzorku nerozpustný komplex, který lze turbidimetricky stanovit při vlnové délce 340/694 nm. Tato metoda byla provedena pomocí diagnostické soupravy Apolipoprotein B (APO B) na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

3.2.2 Stanovení vysoko senzitivního CRP

Zvýšení hladiny CRP v séru nebo plazmě může provázet celkové, nespecifické reakce na infekci a neinfekční zánětlivé reakce jako je revmatoidní artritida, kardiovaskulární onemocnění a onemocnění periferních cév. Syntéza CRP probíhá v játrech pod primární kontrolou interleukinu 6, v séru nebo plazmě se vyskytuje za fyziologických podmínek ve stopovém množství. Během akutního zánětu stoupá hladina CRP až 1000 x a chronický zánět se významně podílí na budoucím rozvoji koronárních příhod. Bylo prokázáno, že pacienti s vyššími hladinami CRP mají v 80 % vyšší pravděpodobnost další koronární příhody do 5 let. Lze tedy na základě hladiny vysoce senzitivního CRP dělit pacienty do skupiny s nízkým a vysokým rizikem.[Šprongl et al., 2003].

Ke stanovení hladiny vysoko senzitivního CRP byla využita imunoanalýza na pevné fázi se značenou alkalickou fosfatázou. Detekce je založena na principu enzymem indukované chemiluminiscence.

V průběhu inkubace reaguje antigen ve vzorku s pevně vázanou protilátkou a se značenou volnou protilátkou. Vzniká sendvičový komplex - navázaná protilátka na pevné fázi - antigen - protilátka značená enzymem (alkalická fosfatáza). Po odstranění nenavázaných složek se přidá chemiluminiscenční substrát. Alkalická fosfatáza hydrolyzuje substrát za vzniku meziprojektu, který se následně rozpadá za vzniku luminiscenčního záření, které je detekováno pomocí fotonásobiče. K analýze byla použita diagnostická souprava High Sensitivity CRP na analyzátoru Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

3.2.3 Stanovení HDL cholesterolu

HDL částice mají přesně opačnou funkci než částice LDL a to transport cholesterolu do jater a jeho následnou eliminaci z organismu přímo ve formě cholesterolu i po jeho přeměně na žlučové kyseliny. Stanovení se provádí pro posouzení rizika onemocnění koronární tepny [Vodrážka, 1996; Voet, 1995].

K analýze bylo použito enzymatické stanovení skládající se ze dvou kroků:

- Účinkem cholesterolesterázy a cholesteroxidázy dochází k eliminaci chylomikronů, VLDL-cholesterolu a LDL cholesterolu. Peroxid vodíku vytvořený oxidázou je odstraněn katalázou.
- Následně dojde k uvolnění HDL cholesterolu surfaktantem z Reagencie 2. HDL cholesterol je měřen Trinderovou reakcí při 596/694nm. Metoda byla prováděna na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) pomocí diagnostické soupravy Direct HDL Cholesterol (D-HDL) HDL cholesterol přímý.

3.2.4 Stanovení HbA1c

Systém na testování hemoglobinu D-10 využívá principu tekutinové chromatografie (HPLC). Vzorek je doprovázen společně s pufrem (s naprogramovaným gradientem se vzrůstající iontovou silou) do analytické kolony, kde jsou hemoglobiny separovány díky vzájemným působením iontů s materiálem kolony. Následně prochází

separované hemoglobiny skrz komůrku fotometru obsahující filtr, kde jsou zaznamenány změny absorbance při 415nm. Pro každý vzorek je vytvořena zpráva a chromatogram. Analýza biologického materiálu byla provedena pomocí diagnostického setu D-10TM HbA1C na analyzátoru D-10 (Bio-Rad).

3.2.5 Stanovení cholesterolu

Cholesterol je základním komponentem buněčných biomembrán a částečně i biomembrán nitrobuněčných organel, prekurzorem steroidních hormonů a je hojně zastoupen v lipoproteinech krevní plazmy. Stanovení cholesterolu se používá pro diagnostiku a léčbu onemocnění komplikovaných zvýšenou hladinou cholesterolu v krvi a poruch metabolismu lipidů a lipoproteinů [Vodrážka, 1996; Voet, 1995].

Analýza byla provedena pomocí diagnostické soupravy Cholesterol_2 (CHOL_2) na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Medical, Diagnostics, USA). Enzymatické stanovení využívá přeměnu, kdy jsou estery cholesterolu hydrolyzovány cholesterolesterázou na cholesterol a volné mastné kyseliny. Cholesteroxidáza přeměňuje cholesterol za přítomnosti kyslíku a tvorby kyslíku na cholest-4-en-3-on. Z 4-aminoantipyridinu, fenolu a peroxidu vodíku za katalýzy peroxidázou vzniká barevný komplex. Jeho koncentrace je stanovena koncovou reakcí (EPA) dle Trindera při vlnové délce 505/694 nm.

3.2.6 Stanovení LDL cholesterolu

LDL částice tvoří velmi heterogenní skupinu částic, jejichž hlavními funkcemi je přenos cholesterolu do tkání, tvorba membránových struktur a syntéza steroidních hormonů. Stanovení LDL cholesterolu slouží k hodnocení rizika onemocnění koronárních tepen [Vodrážka, 1996; Voet, 1995].

Enzymatické stanovení LDL cholesterolu se skládá ze dvou samostatných reakčních kroků:

- V prvním kroku je odstraněn cholesterol nepocházející z LDL lipoproteinů cholesterolesterázou a cholesteroxidázou. Oxidáza produkuje peroxid vodíku, který je následně odstraněn katalázou.

- Stanovení specifického LDL cholesterolu probíhá po jeho uvolnění detergentem z Reagencii 2, které obsahuje azid sodný inhibující katalázu z prvního kroku. Intenzita zabarvení chinon-iminem produkovaným při Trinderově reakci je při stanovení při vlnové délce 596/694nm přímo úměrná koncentraci cholesterolu. Tato metoda byla provedena pomocí diagnostické soupravy LDL cholesterol, přímý (DLDL) na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

3.2.7 Stanovení sd-LDL

Malé denzní LDL (sd-LDL) patří mezi významný sub typ LDL. Metoda stanovující sd-LDL se skládá ze dvou reakčních kroků:

- V prvním kroku jsou chilomikrony, VLDL, IDL, LDL a HDL rozkládány pomocí povrchově aktivní látky z Reagencie 1 a sfingomyelinázy (SPC). Estery cholesterolu jsou hydrolyzovány cholesterolesterázou na cholesterol a volné mastné kyseliny. Cholesterol je dále přeměňován cholestroloxidázou za přítomnosti kyslíku a za tvorby peroxidu vodíku přeměňován cholestroloxidázou na cholest-4-en-3-on. Vzniklý peroxid vodíku je rozkládán katalasou na vodu a kyslík.
- V druhém kroku se účinkem povrchově aktivního činidla z Reagencie 2 uvolní cholesterol pouze z sd-LDL. Cholesterol je opět přeměňován cholesterolesterázou na cholest-4-en-3-on za tvorby peroxidu vodíku, který je přeměněn peroxidázou na červenofialový produkt. Kataláza v reakční směsi je inhibována azidem sodným. Vzniklý barevný komplex je detekován koncovou reakcí (EPA) při vlnové délce 596/694 nm.

Ke stanovení hladiny sdLDL v séru byl použit analyzátor Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) a diagnostická souprava sdLDL-EX "SEIKEN".

3.2.8 Stanovení glukózy

Kvantitativní stanovení glukózy v lidském séru se používá při diagnostice a léčbě poruch cukrů včetně diabetes mellitus I. a II. typu, neonatální hypoglykémie, idiopatické hypoglykémie nebo předávkování inzulinem.

Ke stanovení glukózy bylo použito enzymatické stanovení založeno na Sleinově metodě využívající hexokinázu a glukóza-6-fosfátdehydrogenázu způsobující redukci NAD^+ na NADH. Absorbance NADH je měřena v konečném bodě reakce při 340/410nm. Analýza byla provedena pomocí diagnostické soupravy Glucose Hexokinase II (GLUH) na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

3.2.9 Stanovení lipoproteinu (a)

Základní strukturou lipoproteinu (a) je molekula LDL vázaná na apolipoprotein (a), která se liší svojí velikostí v závislosti na izoformě. Apolipoprotein (a) zřejmě inhibuje fibrinolýzu, díky značné strukturní podobnosti soupeří s plazminogenem; tento jev nelze pozorovat u LDL bez apolipoproteinu (a). Lipoprotein (a) patří mezi aterogenní rizikové faktory nezávislé na exogenních faktorech např. dieta, nebo na dalších lipidových parametrech. Zvýšená hladina lipoproteinu (a) v kombinaci se zvýšenou hladinou LDL mají vysokou prediktivní hodnotu pro koronární srdeční onemocnění. Pro účely screeningu využíváme stanovení celkového cholesterolu a triglyceridů. Stanovení lipoproteinu (a) je kromě LDL cholesterolu, HDL cholesterolu, apolipoproteinu A-I a apolipoproteinu B důležitým parametrem pro určení diagnózy koronárních srdečních onemocnění.

Použitá metoda je založena na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti Lp(a) navázanými na částicích a Lp(a) přítomnými ve vzorku. Stanovení hladiny lipoproteinu v biologickém materiálu byla použita diagnostická souprava Lp(a) Lipoprotein (a) 21 na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

3.2.10 Stanovení kyseliny močové

Kyselina močová je konečným metabolitem purinových látek adeninu a guaninu, které jsou součástí nukleových kyselin a koenzymů [Racek, 2006].

K stanovení hladiny kyseliny močové byla použita diagnostická souprava Uric_Acid na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA). Metoda je založena na urikázové enzymatické reakci dle Fossatiho a koncové reakci (EPA) dle Trindera. Enzym urikáza přeměňuje kyselinu močovou na alantoin a peroxid vodíku. Za katalytického působení peroxidázy se vytváří peroxid vodíku, 4-aminofenazon a TOOS [N-etyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3metylanalin] barevný komplex, jehož koncentrace je přímo úměrná koncentraci kyseliny močové ve vzorku. Absorbance komplexu je stanovena koncovou reakcí (EPA) při vlnové délce 545/694nm.

3.2.11 Stanovení PLAC

PLAC Test patří mezi jednoduché laboratorní testy využívané ke stanovení Lp-PLA₂ v sérum nebo plazmě. Sloužící pro stanovení rizika kardiovaskulárních onemocnění - infarktu myokardu a ischemické cévní mozkové příhody spojených s aterosklerózou [DiaDexus, 2014]. V posledních letech byla publikována řada studií a abstraktů v odborných časopisech a vědeckých konferencích poukazující na Lp-PLA₂ jako na marker pro stanovení kardiovaskulárního rizika [MEDISTA, 2014]. PLAC test je založen na měření hladiny Lp-PLA₂ (lipoprotein-asociované fosfolipázy A₂). Jedná se o zánětlivý, specifický enzym spojený s tvorbou nestabilního plátu náchylného k ruptuře následovanou trombózou a kardiovaskulární příhodou [DiaDexus, 2014]. Enzymové stanovení aktivity Lp-PLA₂ bylo prováděno pomocí diagnostické soupravy PLAC®Test for Lp-PLA₂ Activity na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) Enzym Lp-PLA₂ hydrolyzuje 1-myristoyl-2-(4-nitrofenolsukcinyl) fosfatidylcholin za vzniku barevného produktu 4-nitrofenolu. Rychlost tvorby 4-nitrofenolu je zaznamenána spektrofotometricky a aktivita je vypočítána z rychlosti změny absorbance.

3.2.12 Stanovení triglyceridů

Triglyceridy patří mezi triestery mastných kyselin a glycerolu. Jedná se o lipidy endogenního původu, jejichž syntéza probíhá v játrech, tukové tkáni, tenkém střevě nebo exogenní triglyceridy získané z potravy. Koncentrace triglyceridů v plazmě bývá zvýšena pouze několik hodin po jídle, cca po 12 hodinách jsou za fyziologických

podmínek triglyceridy obsažené v chylomikronech z potravy odbourány. Zásobárnou pro triglyceridy u živočichů jsou tukové buňky tzv. adipocyty [Voet 1995; Vodrážka 1996]. Kvantitativní stanovení triglyceridů se provádí při diagnostice a léčbě pacientů s podezřením na aterosklerózu, nefrotickým syndromem, špatně léčeným diabetem mellitu, s onemocněním jater, obstrukcí nebo s dalšími nemocemi zahrnujícími metabolismus lipidů

V této práci byla použita Fossatiho tříkroková enzymatická reakce s Trinderovým zakončením. Lipáza zde přeměňuje triglyceridy na glycerol a volné mastné kyseliny. Glycerol je následně přeměněn pomocí glycerolové kinázy na glycerol-3-fosfát, který je glycerol-3-fosfát-oxidázou přeměněn na peroxid vodíku. Barevný komplex se vytvoří z peroxidu vodíku, 4-aminofenazonu a 4-chlorfenolu za katalýzy peroxidázou. Absorbance komplexu je 505/694 nm. Analýza byla provedena na analyzátoru Advia 1800 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) pomocí diagnostické soupravy Triglyceridy (TRIG). Stanovení jedno reagenční metodou slouží k průkazu triglyceridů včetně mono a diglyceridů včetně volných glycerolových frakcí.

3.3 VÝPOČET ATEROGENNÍHO INDEXU

Výpočet aterogenního indexu byl proveden pomocí vzorce:

$$\mathbf{AI} = \frac{\mathbf{celkový\ cholesterol - HDL\ cholesterol}}{\mathbf{HDL\ cholesterol}} \quad \mathbf{[bezrozměrná\ veličina]}$$

Riziko aterosklerózy se zvyšuje se stoupající hodnotou aterogenního indexu. Jeho výpočet slouží k eliminaci případů zvýšené hladiny cholesterolu, které jsou zapříčiněny zvýšenou hladinou HDL-cholesterolu, z čehož vyplývá, že nejsou rizikové. [Racek, 2006]

3.4 VÝPOČET BMI- BODY MASS INDEX

Index tělesné hmotnosti (body mass index) slouží jako indikátor podváhy, normální tělesné hmotnosti, nadváhy, případně obezity. K výpočtu používáme nomogramy, tabulky nebo v dnešní době hlavně počítačové programy. Pro výpočet používáme obecný vzorec:

$$\text{BMI} = \frac{\text{hmotnost}}{\text{výška}^2} \quad [\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}]$$

Pro správnou interpretaci výsledků BMI se udává věk a pohlaví pacienta.

3.5 VÝPOČET A ZHODNOCENÍ CELKOVÉHO RIZIKA KARDIOVASKULÁRNÍ PŘÍHODY

Pro výpočet celkového rizika KVO byl použit webový kalkulátor Reynoldsova skóre 10letého rizika kardiovaskulárního onemocnění u mužů a žen [dostupný z: <http://www.naskl.cz/vzdelavani/kalkulatory/Framingham/Framingham.htm>] a „SCORE algoritmus” pro výpočet desetileté pravděpodobnosti fatální kardiovaskulární příhody založený na Weibullově modelu [dostupný z: <http://www.naskl.cz/vzdelavani/kalkulatory/Reynolds/Reynolds.htm>] Zhodnocení bylo provedeno pomocí barevných tabulek SCORE (Obr. 7, str. 69; Obr. 8, str. 70) pro Českou republiku, které vycházejí z mortalitních údajů České republiky a základních rizikových faktorů KVO získávaných z reprezentativních vzorků české populace [Veverková et al., 2007; Cífková et al., 2006]

3.6 CHARAKTERISTIKA SOUBORU PACIENTŮ

Soubor vyšetřovaných osob tvoří náhodně vybraní muži i ženy středního věku bez klinických známek aterosklerózy, klientů lázeňského resortu Savoy Westend Hotel v Karlových Varech, zaměřeného na léčbu metabolických poruch. Soubor zahrnoval 69 mužů a 31 žen, celkem tedy 100 osob. Průměrný věk všech sledovaných osob byl 56,7 roku (rozpětí 46 – 66 let), u mužů byl průměrný věk 56,1 roku (rozpětí 46 – 66 let), u žen 58,1 roku (rozpětí 47 – 66 let). Ve všech vzorcích byly stanoveny tyto parametry: cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceridy, ApoB, Lp(a), hs-CRP,

sd-LDL, Lp-PLA₂ (PLAC), glykémie, HbA_{1c} a urikémie. Současně byla u každého pacienta zaznamenána hmotnost, výška, obvod pasu, manifestace KVO u matky nebo otce, diagnostikovaný diabetes mellitus, kuřáctví a současná léčba hypolipidemiky (Obr. 9). Všechna vyšetření včetně odběru krve byla provedena na začátku lázeňské léčby.

Žádanka o vyšetření rizika kardiovaskulárního onemocnění AeskuLab, Nepomucká 159a, Plzeň

Příjmení					Razítko a podpis lékaře							
Jméno												
Rodné číslo											Ž	M
Datum nar.												
Lékař				Diagnóza								
Odděl.			Datum a čas odběru			Odbornost						

<input type="checkbox"/> Atheropanel	<input type="checkbox"/> Hodnocení SCORE (Reynolds)		
S-Celkový cholesterol	Pacient		
S-HDL-Cholesterol	Údaje pro hodnocení		
S-LDL-Cholesterol	Váha (kg)		
S-Triglyceridy	Výška (cm)		
S-Apo-B	Krevní tlak (mmHg, syst/diast)		
S-Lpa	Obvod pasu (cm)		
S-hs-CRP			
S-sd-LDL			
S-PLAC			
S- Kyselina močová			
P-Glukosa			
B-Glykovaný hemoglobin			
Léky:			

Obr. 9: Žádanka o vyšetření rizika kardiovaskulárního onemocnění [AeskuLab Plzeň]

4 VÝSLEDKY

4.1 STUDIUM RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY PODLE REYNOLDSOVA SKÓRE

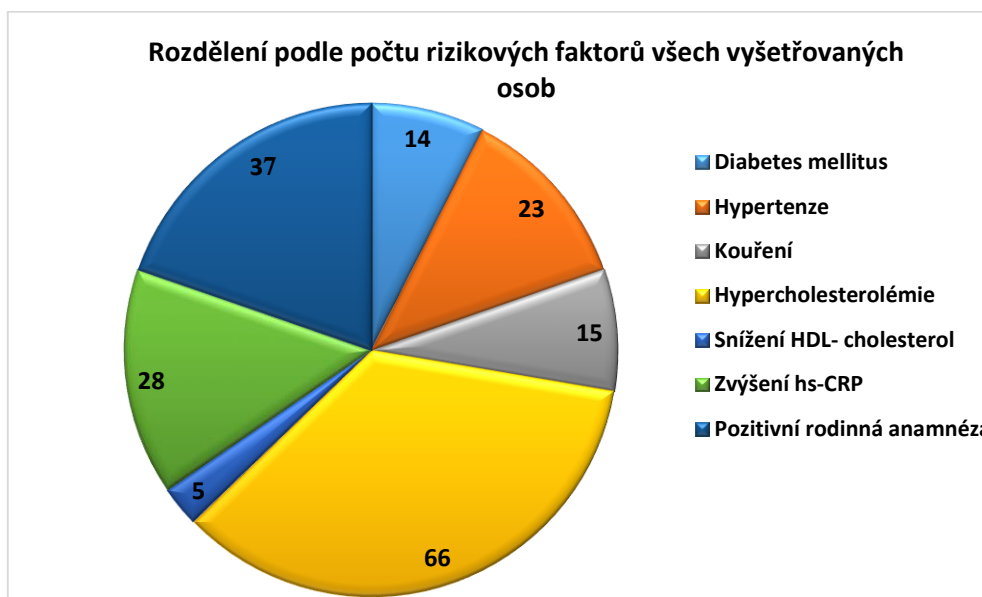
V první části bakalářské práce byla u souboru náhodně vybraných pacientů provedena analýza rizikových faktorů aterosklerózy, které byly použity pro výpočet celkového rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO) pomocí webového kalkulátoru Reynolds SCORE (pohlaví, věk, kouření, systolický tlak, celkový a HDL-cholesterol, hs-CRP, rodinná anamnéza, resp. kardiální příhoda u rodičů před 60 rokem života).

Tab. 4: Počet rizikových faktorů, které jsou součástí Reynoldsova skóre u všech vyšetřovaných osob, žen a mužů (absolutní počet, u hodnoty celkem se rovná procentům)

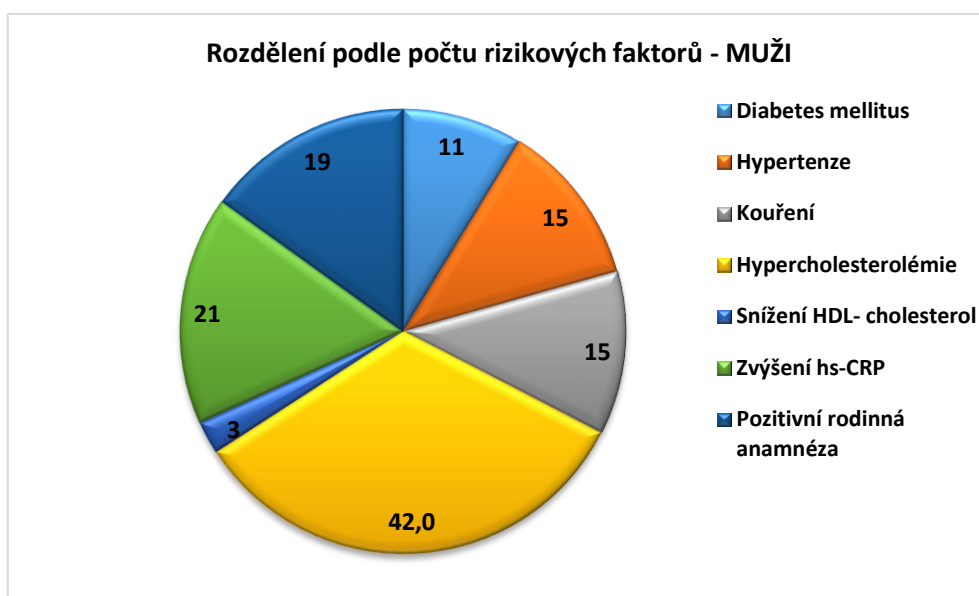
Rizikový faktor	muži (počet/%)	ženy (počet/%)	celkem (počet = %)
Diabetes mellitus	11/15,9	3/9,7	14
Hypertenze	15/21,7	8/25,8	23
Kouření	15/21,7	0	15
Hypercholesterolemie	42/60,9	24/77,4	66
Snížení HDL-cholesterol	3/4,3	2/6,5	5
Zvýšení hs-CRP	21/30,4	7/22,6	28
Pozitivní rodinná anamnéza	19/27,5	18/58,1	37

Z Tab. 4 je patrné, že u všech vyšetřovaných osob (Graf. 3, str. 41) je nejčastěji zastoupeným rizikovým faktorem zvýšená hladina cholesterolu (> 5 mmol/l). Zvýšená hladina cholesterolu se vyskytovala v 66 % v celé vyšetřované populaci, následována pozitivní rodinnou anamézou v 37 % a zvýšenou hladinou hs-CRP v 28 % (> 3 mg/l) v 28 %. Naopak jako nejméně vyskytující se rizikový faktor se ukázal snížený HDL cholesterol (< 1 mmol/l u mužů a < 1,3 mmol/l u žen) a diabetes mellitus. V mužské populaci (Graf. 4, str. 41) je na první příčce rizikových faktorů hypercholesterolemie, která se nacházela u více než 60 % vyšetřovaných osob. Mírně zvýšená hodnota CRP se (hs-CRP) se v mužské populaci vyskytovalo téměř ve třetině případů. Všichni kuřáci

z celého souboru (15 osob) byli muži. Více než čtvrtina mužů měla pozitivní rodinnou anamnézu. Minimálně se vyskytujícím rizikovým faktorem u vyšetřovaných mužů byla snížená hladina HDL cholesterolu.



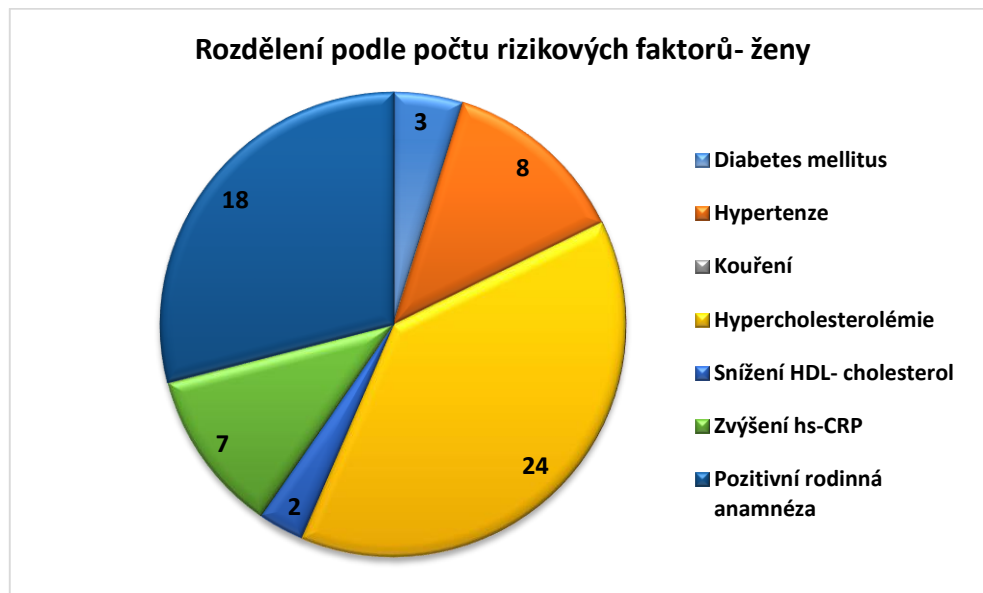
Graf. 3 : Rozdělení vyšetřovaných osob žen i mužů podle přítomnosti rizikových faktorů sloužících k výpočtu rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO); počty osob s rizikovým faktorem se zároveň rovnají procentům



Graf. 4: Rozdělení vyšetřovaných mužů podle přítomnosti rizikových faktorů sloužících k výpočtu rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO); čísla uvádějí počty osob s rizikovým faktorem

U vyšetřených žen (Graf. 5, str. 42) byla stejně jako u mužů nejčastějším rizikovým faktorem hypercholesterolemie (24 osob, tj. 77,4%), následovaná u více než

poloviny žen kardiální příhodou u rodičů před 60. rokem života. V ženské populaci se vyskytlo mírné zvýšení CRP v menším procentu počtu osob než u mužů a všechny ženy byly nekuřačky.



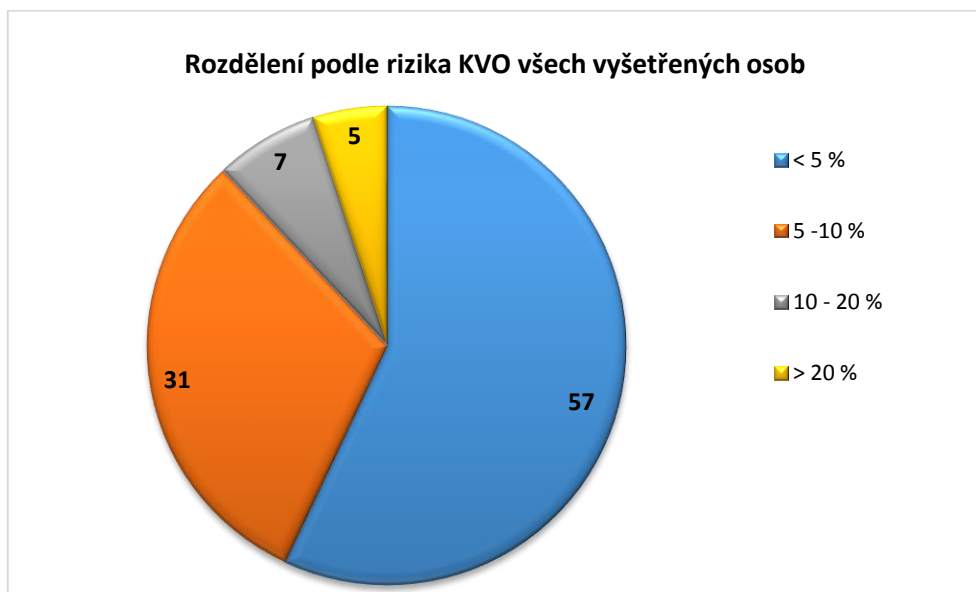
Graf. 5: Rozdělení vyšetřovaných žen podle přítomnosti rizikových faktorů sloužících k výpočtu rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO); čísla uvádějí počet osob s přítomným rizikovým faktorem

Na základě vypočítaného rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO) podle Reynoldsova skóre byly vyšetřované osoby rozděleny do několika skupin, a to na osoby:

- s < 5 % rizikem KVO
- s 5 – 10 % rizikem KVO
- s 10 – 20 % rizikem KVO
- s > 20 % rizikem KVO

Toto rozdělení je znázorněno na Grafu 6 (Graf. 6, str. 43), z kterého je patrné, že nejpočetnější skupinu tvoří pacienti s rizikem KVO < 5 %, následně s 5-10 %, pak s 10-15 % a minimálně s rizikem KVO > 20 %. Z Grafu. 7 (Graf. 7, str. 43), ve kterém byla rozdělena populace vyšetřovaných žen podle rizika KVO, je zřejmé, že 87 % žen nese < 5 % riziko KVO a pouze u 13 % žen se vyskytovalo 5-10 % riziko KVO. Vyšetřovaní muži byli na rozdíl od žen pouze v 43 % nositeli < 5 % rizika KVO, 39 % je zahrnuto do

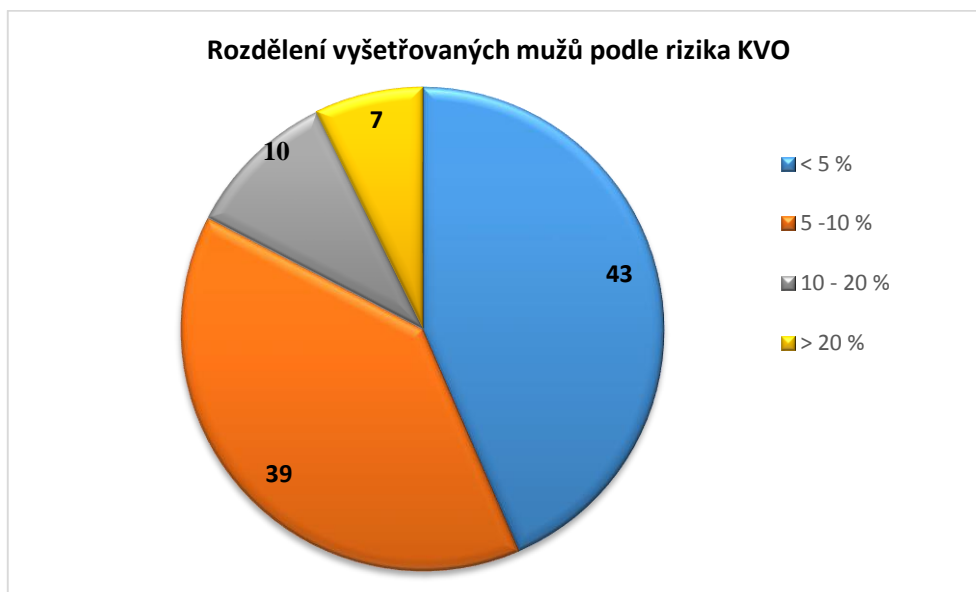
rizikové skupiny 5-10 % rizika KVO, v 10% tvoří skupinu 10-20 % rizika a 7 % patří do skupiny s > 20% rizikem KVO (Graf. 8, str. 44).



Graf. 6: Rozdělení všech vyšetřovaných pacientů podle vypočítaného rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO)



Graf. 7: Rozdělení všech vyšetřovaných žen podle vypočítaného rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO)



Graf. 8 : Rozdělení všech vyšetřovaných mužů podle vypočítaného rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO)

4.2 STUDIUM DALŠÍCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ ATEROSKLERÓZY

V dalším experimentu byl zkoumán vliv nových rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění, které nejsou běžnou součástí laboratorního vyšetření, které by však podle některých údajů mohly představovat další významný rizikový faktor KVO. Mezi tyto faktory patří:

- malé denzní LDL, sd-LDL
- fosfolipáza asociovaná s lipoproteinem, Lp-PLA₂
- lipoprotein (a), Lp(a)

Procentuální zastoupení těchto nezávislých rizikových faktorů u všech vyšetřených osob, mužů a žen je zaznamenáno v Tab. 5 (Tab. 5, str. 45). Z této tabulky je patrné, že fosfolipáza asociovaná s lipoproteinem se vyskytovala u 49 vyšetřovaných osob tj. u 49 %. U mužů bylo procentuální zastoupení tohoto faktoru více než trojnásobné. Zvýšená hladina lipoproteinu (a) byla prokázána u 38 % celé populace, přičemž pozitivita byla nevýznamně vyšší u žen. Výskyt malého denzního LDL (sd-LDL) byl nejméně četný a činil 16 % u všech vyšetřovaných, o něco vyšší byl u mužů než u žen – to může souviset s vyšším výskytem metabolického syndromu u mužů.

Tab. 5: Zastoupení nezávislých rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění (KVO): malého denzního LDL (sd-LDL), fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA2) a lipoproteinů a (Lp(a)) u celé populace vyšetřovaných osob, žen a mužů.

Rizikový faktor	muži [%]	ženy [%]	celkem [%]
sd-LDL	12/17,4	4/12,9	16
Lp-PLA2	43/62,3	6/19,4	49
Lp(a)	25/36,2	13/41,9	38

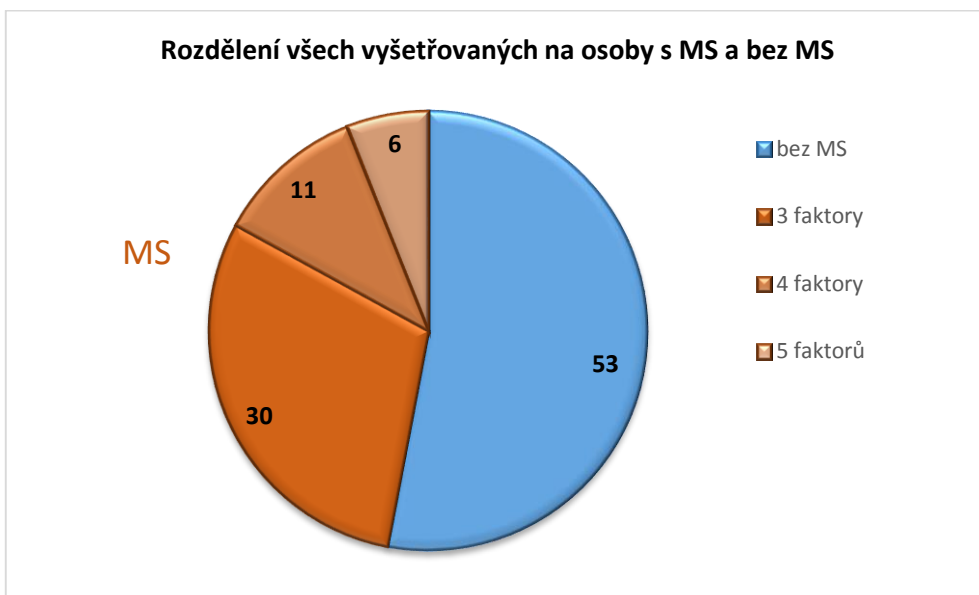
V Tab. 6 je znázorněno procentuální vyčíslení nových „netradičních“ rizikových faktorů (sd-LDL, Lp-PLA₂ a Lp (a)) v jednotlivých rizikových skupinách podle Reynoldsova skóre. Podíl zvýšených hodnot Lp-PLA₂ roste plynule s rostoucí hodnotou Reynoldsova skóre. Naopak u zbylých dvou faktorů, tj. u sd-LDL a Lp(a), není tento trend patrný.

Tab. 6: Procentuální zastoupení nezávislých rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění (KVO) malého denzního LDL (sd-LDL), fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA2) a lipoproteinů a (Lp(a)) v rizikových skupinách podle Reynoldsova skóre

Pozitivní rizikový faktor	Riziko podle Reynoldsova skóre			
	< 5 %	5 - 10 %	10 - 15 %	> 20 %
sd-LDL	17,5	12,9	0	40,0
Lp-PLA ₂	35,1	61,3	71,4	100,0
Lp(a)	45,6	25,8	42,9	20,0

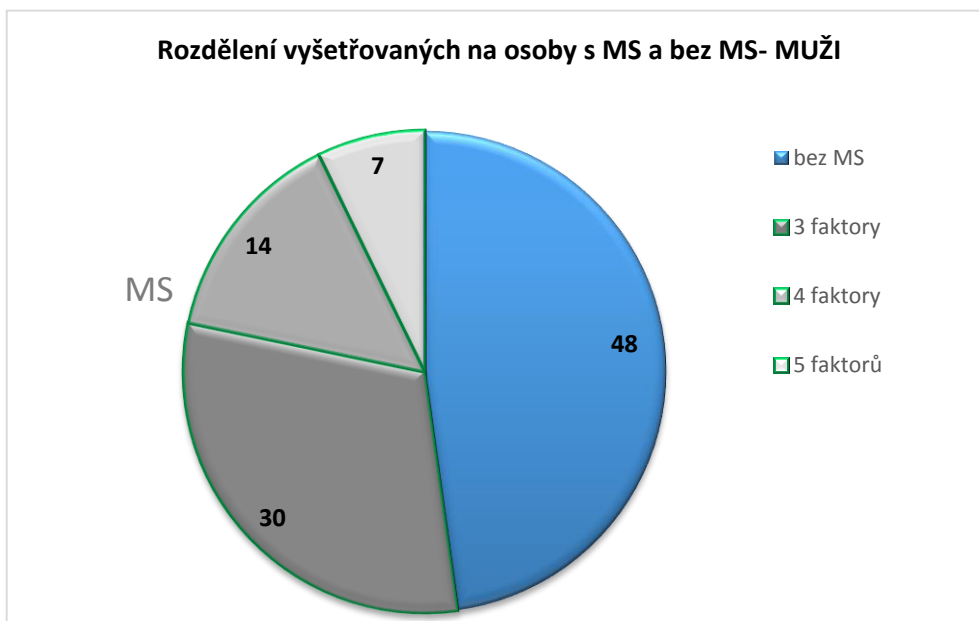
4.3 DIAGNOSTIKA METABOLICKÉHO SYNDROMU PODLE DEFINICE ČESKÉHO INSTITUTU METABOLICKÉHO SYNDROMU

Pacienti trpící metabolickým syndromem (MS) jsou v důsledku kombinace několika rizikových faktorů významně ohroženi vysokým rizikem kardiovaskulárního onemocnění (KVO). Proto byla další část bakalářské práce věnována rozdělení vyšetřovaných osob podle definice Českého institutu pro metabolický syndrom na osoby: bez metabolického syndromu a osoby s metabolickým syndromem. Osoby s MS byly dále děleny na osoby s třemi/čtyřmi/pěti splněnými diagnostickými kritérii (Graf. 9). Z grafu vyplývá, že jen 53 % všech vyšetřovaných osob byly osoby bez MS. MS byl diagnostikován u 47 % ze všech vyšetřovaných osob, z toho 30 % byly osoby s třemi, 11 % s čtyřmi a 6 % s pěti diagnostickými kritérii.



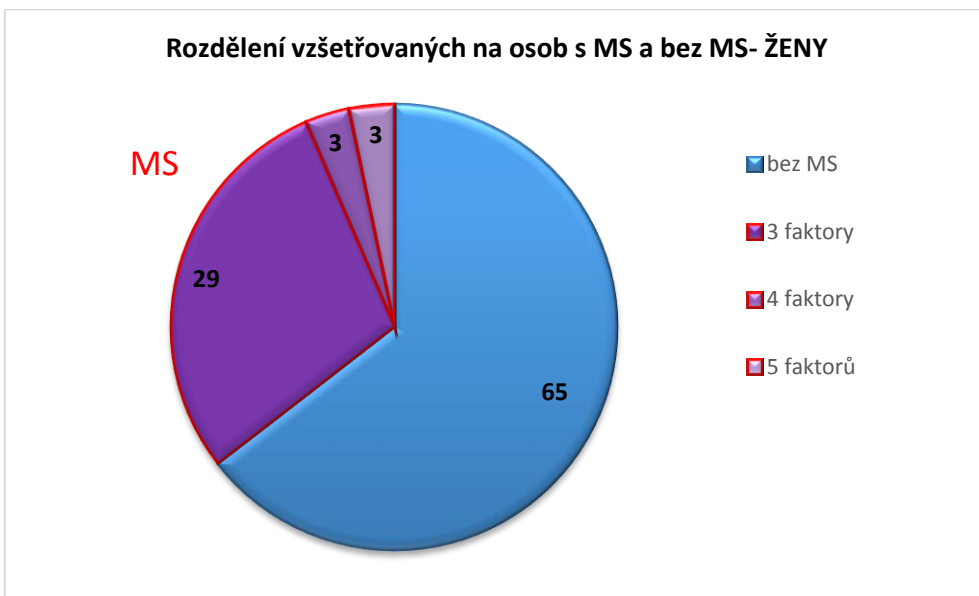
Graf. 9 : Rozdělení vyšetřovaných pacientů na osoby s metabolickým syndromem (MS) a bez metabolického (bez MS). U osob s metabolickým syndromem (s MS) rozdělení podle přítomnosti tří, čtyř nebo pěti diagnostických kritérií.

Graf. 10 (Graf. 10, str. 47) rozděluje populaci vyšetřovaných mužů na 48 % bez metabolického syndromu a 52 % s metabolickým syndromem, z toho 30 % tvořili muži s třemi diagnostickými kritérii, 14 % se čtyřmi a 7 % s pěti.



Graf. 10 : Rozdělení populace vyšetřovaných mužů na osoby s metabolickým syndromem (s MS) a bez metabolického syndromu (bez MS). U mužů s metabolickým syndromem (s MS) rozdělení podle přítomnosti 3, 4 nebo 5 diagnostických kritérií

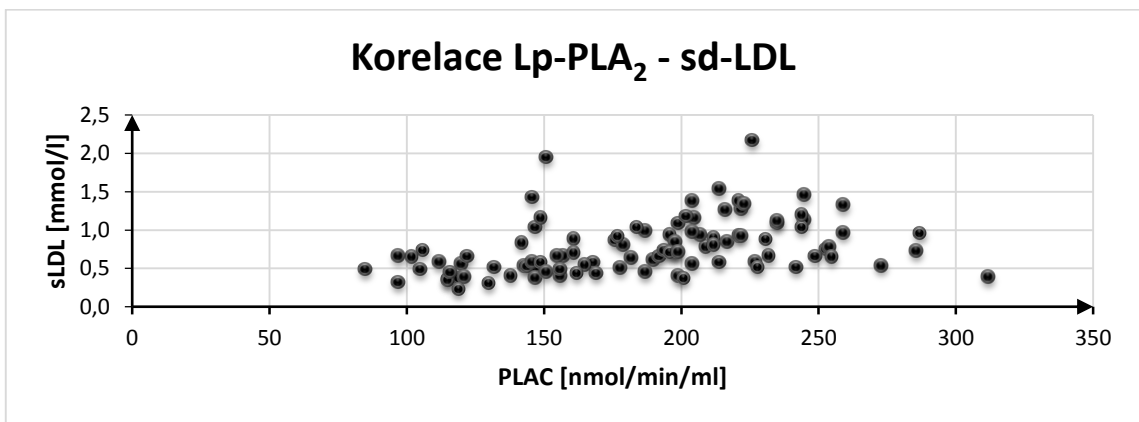
Oproti tomu vyšetřované ženy (Graf. 11) byly v 65 % bez metabolického syndromu a pouze u 35 % žen se vyskytoval metabolický syndrom. Z těchto 35 % je 29 % s třemi, 3 % se čtyřmi a zbylá 3 % s pěti diagnostickými kritérii.



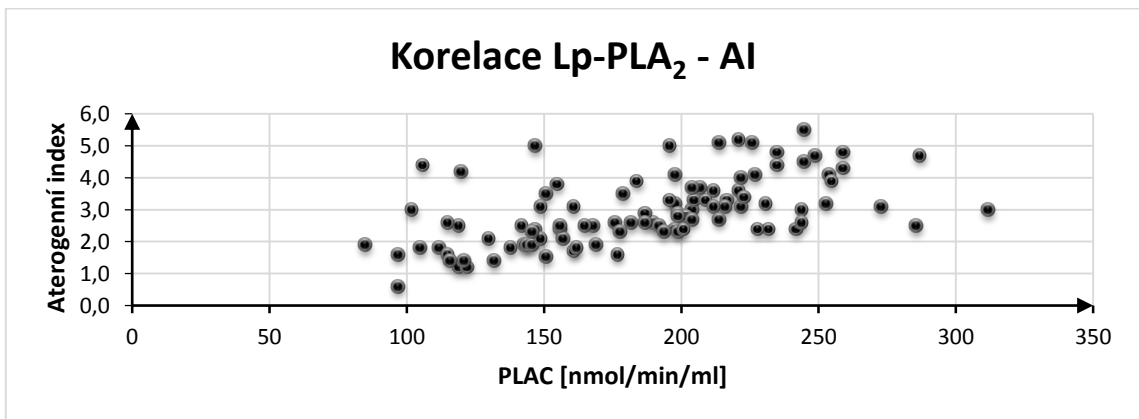
Graf. 11 : Rozdělení populace vyšetřovaných žen na osoby s metabolickým syndromem (s MS) a bez metabolického syndromu (bez MS). U žen s metabolickým syndromem (s MS) rozdělení podle přítomnosti 3, 4 nebo 5 diagnostických kritérií.

4.4 KORELACE KLASICKÝCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ S NOVÝMI BIOMARKERY

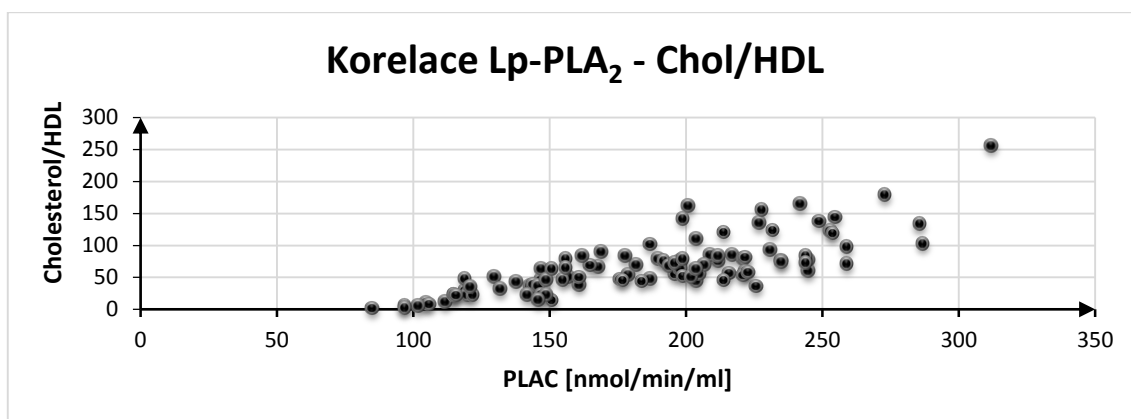
V závěrečné části bakalářské práce byla sledována korelace každého z nových rizikových faktorů, tj. malého denzního LDL (sd-LDL), fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) a lipoproteinu (a) (Lp(a)) s „klasickými“ rizikovými faktory, použitými pro výpočet Reynoldsova skóre rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO). V grafech č. 12, 13(str. 48), 14, 15(str. 49), 16, 17, 18(str. 50), 19 a 20 (str. 51) jsou zobrazeny korelace, které přesáhly hodnotu korelačního koeficientu přes hodnotu 0,4 a byly i statisticky významné. Ostatní korelace jsou z důvodu nízkého korelačního koeficientu statisticky nevýznamné, a proto nejsou uváděny.



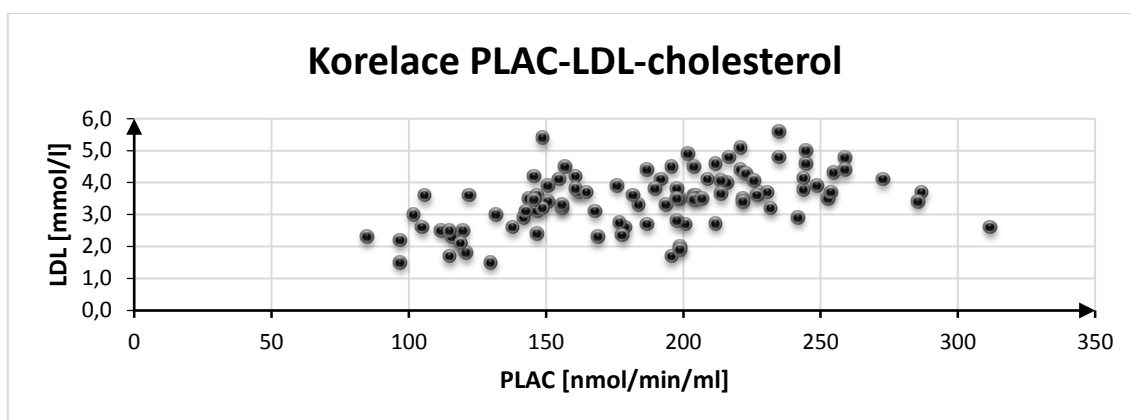
Graf. 12: Korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) s malým denzním LDL (sd-LDL). Korelační koeficient je 0,493.



Graf. 13: Korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) s aterogenním indexem (AI). Korelační koeficient je 0,617.

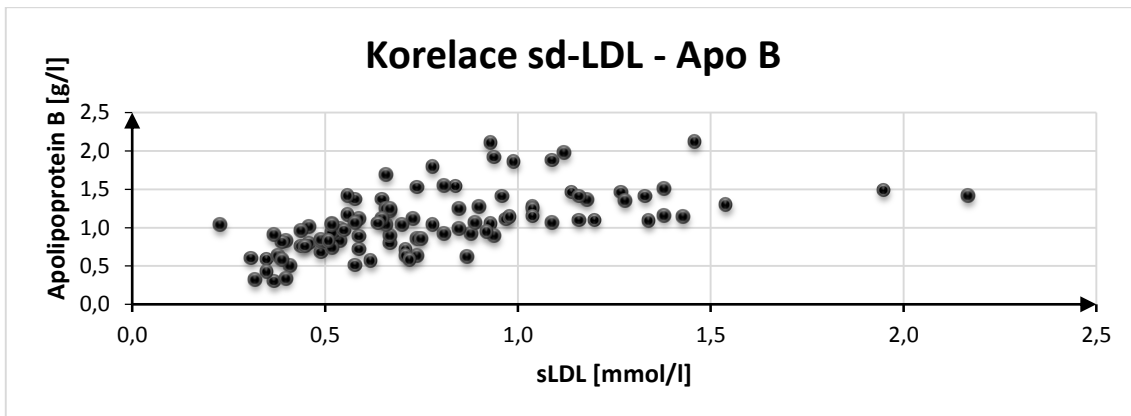


Graf. 14: Korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) s poměrem cholesterol/HDL (CHOL/HDL). Korelační koeficient je 0,617.

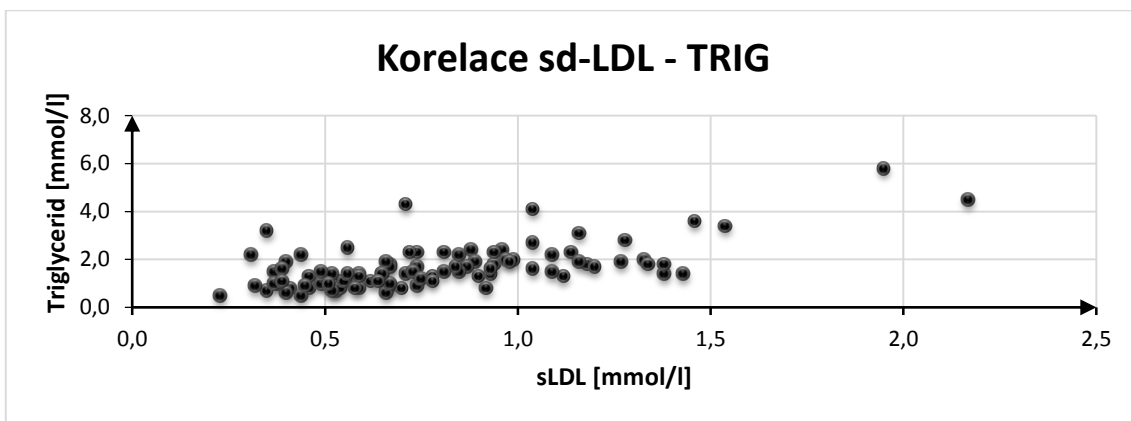


Graf. 15: Korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) s LDL-cholesterolem (LDL). Korelační koeficient je 0,532.

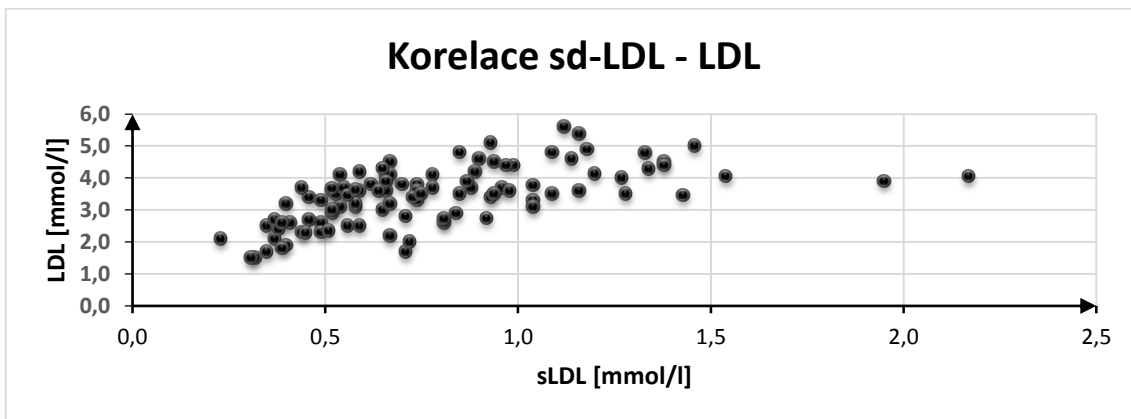
Grafy. 12-15 znázorňují statisticky významné korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) s jednotlivými rizikovými faktory, které byly použity pro výpočet Reynolds SCORE. Nejvýznamnějšími korelacemi Lp-PLA₂ jsou korelace s aterogenním indexem (Graf. 13, str. 48) s korelačním koeficientem 0,617, korelace s poměrem cholesterol/HDL (Graf. 14) korelační koeficient 0,617, korelace s LDL-cholesterolem (Graf. 15), korelační koeficient 0,532. Nejmenší korelaci Lp-PLA₂ vykazuje s malým denzním LDL (sd-LDL), (Graf. 12, str. 48) zde hodnota korelačního koeficientu činí 0,493. Ostatní korelace nebyly uvedeny z důvodu statistické nevýznamnosti.



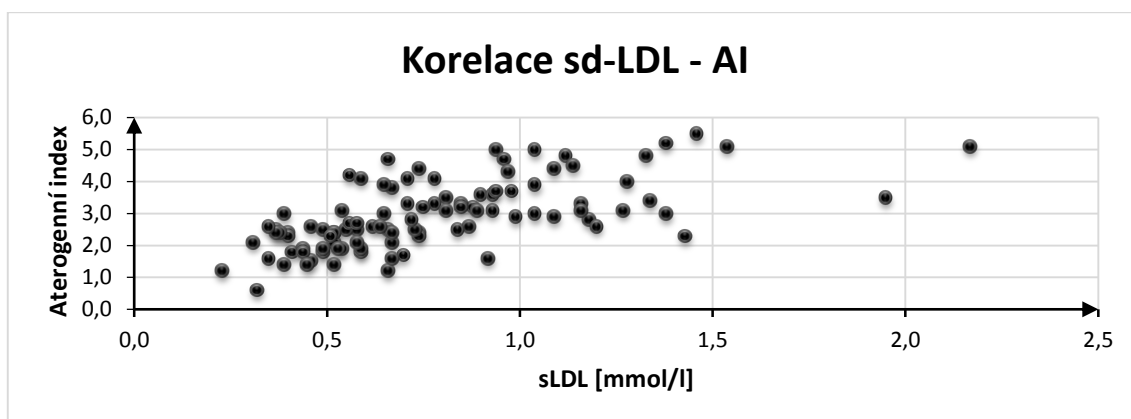
Graf. 16: Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s Apolipoproteinem B (Apo B). Korelační koeficient 0,678.



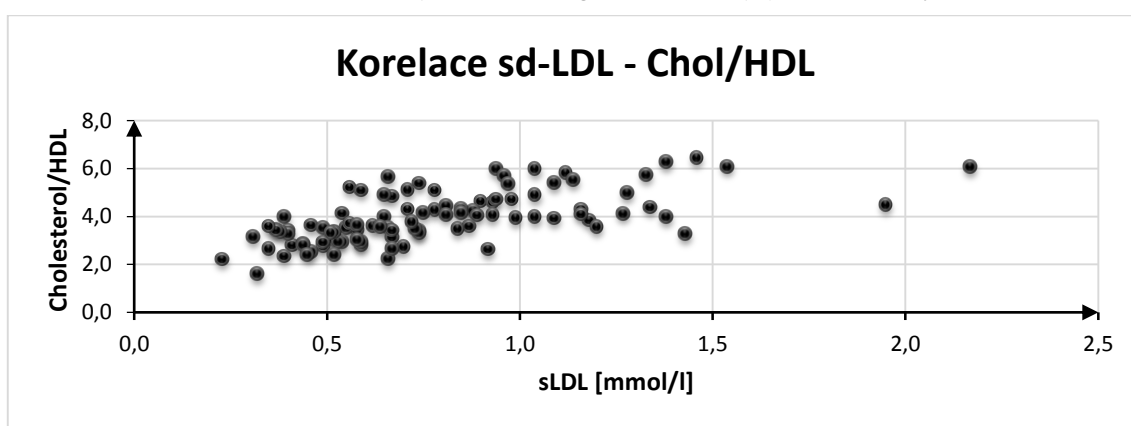
Graf. 17: Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s triglyceridy (TRIG). Korelační koeficient 0,579.



Graf. 18: Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s LDL-cholesterolem. Korelační koeficient 0,667.



Graf. 19: Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s aterogenním indexem (AI). Korelační koeficient 0,677.



Graf. 20: Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s poměrem cholesterol/HDL (CHOL/HDL). Korelační koeficient 0,676.

Korelace malého denzního LDL (sd-LDL) s apolipoproteinem B (Apo B) (Graf. 16, str. 50) je statisticky nejvýznamnější (korelační koeficient 0,678). Neméně těsnou korelaci tvoří sd-LDL s aterogenním indexem (Graf. 19), korelační koeficient 0,677, dále korelace s poměrem cholesterol/HDL-cholesterol (CHOL/HDL) (Graf. 20), korelační koeficient 0,676. Na dalším místě je predikovaná korelace s LDL-cholesterolem (Graf. 18, str. 50) s korelačním koeficientem 0,667. Nejmenší závislost byla zaznamenána s triglyceridy (TG), (Graf. 17, str. 50) s hodnotou korelačního koeficientu 0,579 následována fosfolipázou asociovanou s lipoproteinem (Lp-PLA₂), kde byla vypočtena hodnota korelačního koeficientu 0,493 (Graf. 12, str. 48). Stejně jako u fosfolipázy asociované s lipoproteinem (Lp-PLA₂) nejsou uváděny statisticky nevýznamné korelace.

Lipoprotein (a) nekoreloval významně s žádným z klasických rizikových faktorů.

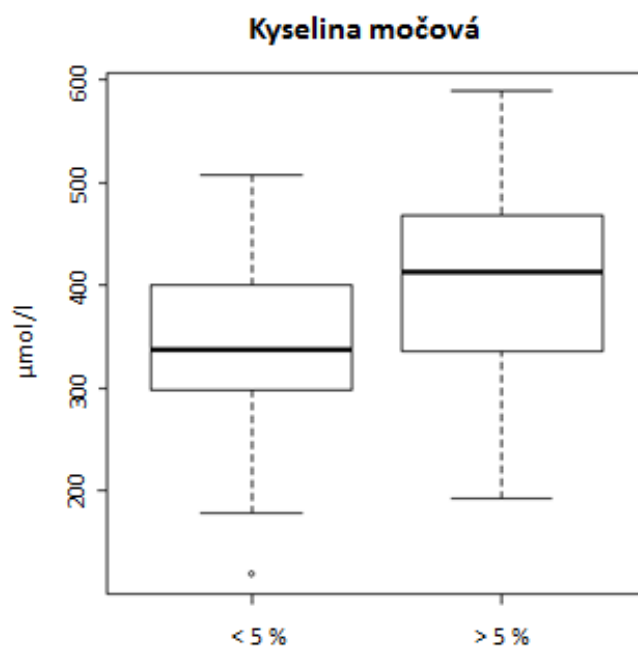
V další části studie jsme sledovali, zda se výskyt tří nových studovaných faktorů liší podle výsledků Reynoldsova skóre, tedy v jednotlivých skupinách rozdělených podle výše rizika KVO. Výpočet byl proveden pouze pro celý soubor, tedy nuže i ženy dohromady. Protože největší počet osob měl nejnižší riziko (< 5 %) a v dalších třech skupinách (s rizikem 5 – 10 %, 10 – 20 % a > 20 %) bylo málo osob, rozhodli jsme se tyto tři skupiny spojit. Tento postup je v souladu novým doporučením Evropské aterosklerotické společnosti, přijatým i Českou aterosklerotickou společností [Soška et al., 2013]. Toto doporučení rozděluje riziko KVO na následující skupiny:

- < 1 % – nízké riziko KVO
- 1 – 5 % – střední riziko KVO
- 5 – 10 % – vysoké riziko KVO
- 10 % – velmi vysoké riziko KVO

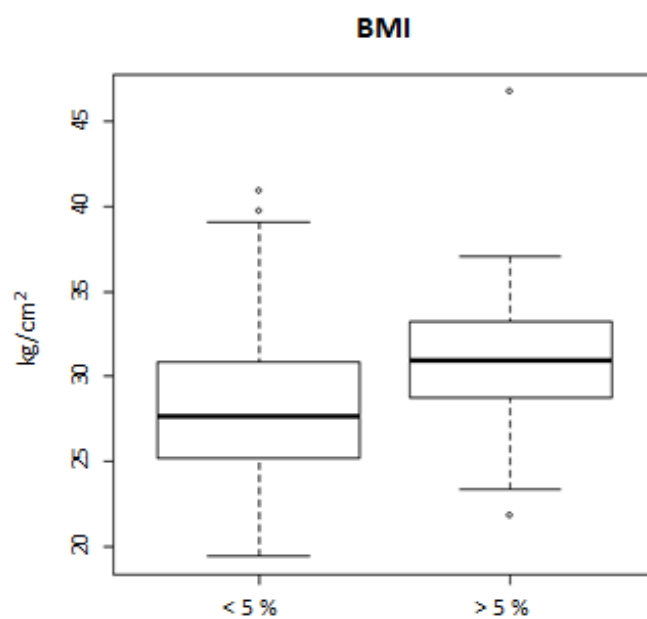
Naše dvě skupiny tedy zahrnují osoby s

- nízkým až středním rizikem KVO (< 5 %)
- vysokým až velmi vysokým rizikem KVO (> 5 %)

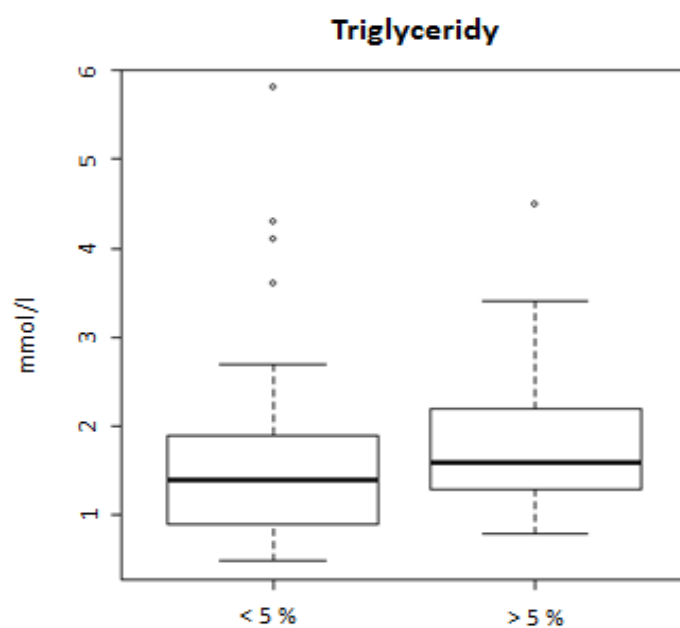
Tyto dvě skupiny se podle očekávání lišily ve výskytu těch rizikových faktorů, z nichž se počítá Reynoldsovo skóre, tj. věk ($p < 0,002$), poměr celkový/HDL-cholesterol ($p < 0,002$), systolický krevní tlak ($p < 0,001$), CRP ($p < 0,001$). Lišila se však i koncentrace některých dalších „klasických“ rizikových faktorů, s kterými Reynoldsovo skóre nepočítá, jsou však typické pro osoby s MS; byly to kyselina močová ($p < 0,001$, Graf. 21, str. 53), BMI ($p < 0,002$, Graf. 22, str. 53) a triglyceridy ($p < 0,05$, Graf. 23, str. 54).



Graf. 21: Srovnání sérové hladiny kyseliny močové u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO

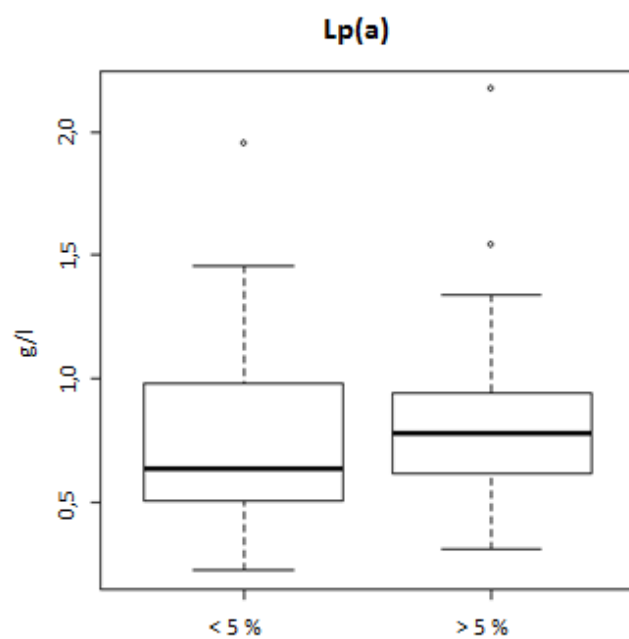


Graf. 22: Srovnání hodnoty BMI u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO

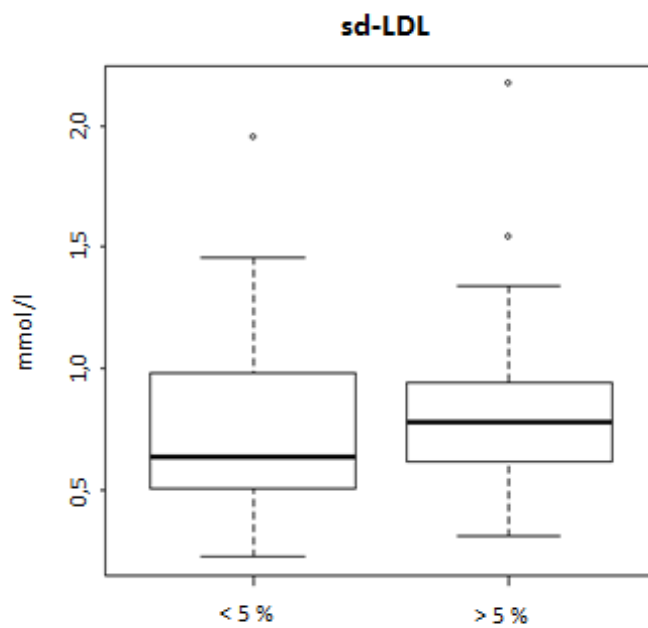


Graf. 23: Srovnání hodnoty triglyceridů u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO

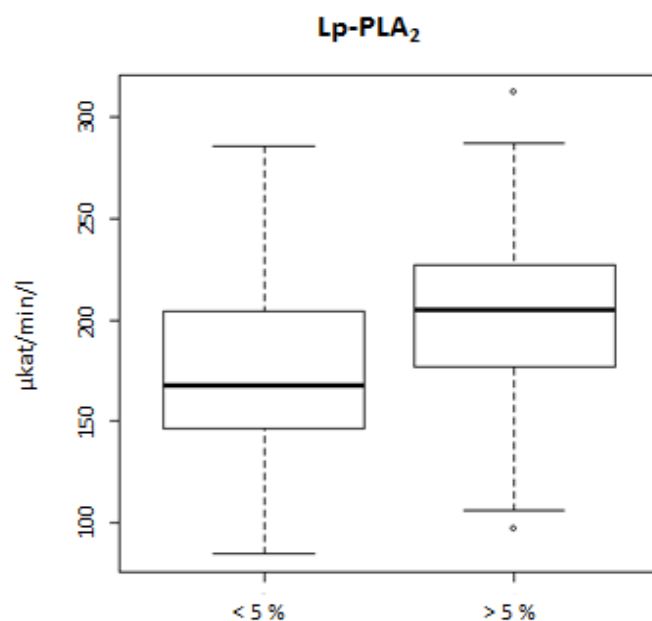
Srovnání výskytu netradičních rizikových faktorů u našich dvou skupin nemocných, rozdělených podle rizika KVO, ukazují následující grafy. Je z nich patrné, že zatímco se koncentrace Lp(a) a sd-LDL se v těchto dvou skupinách nelišila (Graf. 24 a Graf. 25, str. 55), měly osoby s vysokým až velmi vysokým rizikem významně vyšší hladinu Lp-PLA₂ ($p < 0,02$, Graf 26, str. 56).



Graf 24: Srovnání hodnoty Lp(a) u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO



Graf 25: Srovnání hodnoty sd-LDL u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO



Graf 26: Srovnání hodnoty Lp-PLA₂ u dvou skupin osob, rozdělených podle výsledku Reynoldsova skóre rizika KVO

Poslední pohled na vztah netradičních rizikových faktorů a faktorů klasických ve formě Reynoldsova skóre nám ukázala vícečetná regrese. Zatímco Lp(a) a sd-LDL nejevily žádný vztah k Reynoldsovu skóre, u Lp-PLA₂ se vztah ukázal statisticky významný ($p < 0,02$). Poměrně nízký koeficient determinace $r = 0,0801$ však ukazuje, že prediktivní význam Lp-PLA₂ pro odhad skóre rizika KVO je velmi malý.

5 DISKUZE

V prvé části bakalářské práce byli pacienti rozděleni na základě rizika kardiovaskulárního onemocnění (KVO) určeného podle Reynoldsova skóre. Největší procento vyšetřených osob spadalo do nejméně rizikové skupiny s rizikem KVO menším než 5 % i přesto, že všichni vyšetření muži a až na několik výjimek vyšetřené ženy spadali do skupiny s rizikovým věkem (muži 45 let a vyšší, ženy 55 let a vyšší) [Češka, 2012]. Fakt, že muži mají vyšší riziko KVO než ženy, byl jednoznačně potvrzen v provedené analýze rizikových faktorů. Z neovlivnitelných rizikových faktorů hrála vedle již uvedeného věku a pohlaví významnou roli i genetická predispozice ze strany matky nebo otce. Výjimkou nebyla ani předčasná anamnéza ICHS u obou rodičů [Češka, 2012].

Za nejdůležitější ovlivnitelný faktor rizika KVO je v první řadě považována hyperlipoproteinémie [Češka, 2012]. Tento poznatek byl potvrzen i v této bakalářské práci, kde byla hypercholesterolémie prokázána u 66 % vyšetřených mužů a žen. Snížená hladina HDL-cholesterolu byla stanovena pouze u 5 % vyšetřených. U pacientů s rizikem KVO < 5 % a hladinou cholesterolu > 5 mmol/l se předpokládá překročení 5 % hranice rizika KVO ve věku nad 60 let. Pokud je desetileté riziko přítomno již v současnosti nebo po extrapolaci na věk nad 60 let, je nutné zavést režimové opatření (dostatečná tělesná aktivita, absence kouření a vyvážené stravování) nebo zvolit vhodnou medikamentózní léčbu vedoucí ke snížení celkového cholesterolu pod 5 mmol/l a LDL-cholesterolu pod 3 mmol/l [Cífková et al., 2005].

Dalším významným rizikovým faktorem – hypertenzí – trpělo 23 % vyšetřených. Bohužel nemůžeme určit, do jaké míry byl normální krevní tlak u pacientů ovlivněn podáváním medikamentů na snížení krevního tlaku; dá se předpokládat, že po jejich zahrnutí by podíl osob s hypertenzí vzrostl.

Kouření cigaret jako další rizikový faktor ohrožoval pouze 15 % vyšetřených mužů; ženy byly bez výjimky nekuřačky.

Všichni pacienti trpící diabetem (14 %) byli zařazeni do nejrizikovější skupiny. Diabetes mellitus je velmi významným rizikovým faktorem kardiovaskulárního onemocnění. To je příčinou 2/3 úmrtí pacientů s diabetem [Češka, 2012]. Vhodně zvolená kompenzace u diabetiků 1. a 2. typu má pozitivní účinky na rozvoj

mikrovaskulárních komplikací, ale i aterosklerózy a jejich komplikací [Cífková et al., 2005].

Zvýšená hladina hs-CRP, parametru důležitého pro posouzení zánětlivé složky aterogeneze [Cífková et al., 2005], byla prokázána ve 28 %, a to v 30,4 % u vyšetřených mužů a v 22,6 % u žen. Jelikož vyšetření lipidového profilu neudává dostatečný obraz o kardiovaskulárním onemocnění, je snahou využít markery zánětu, tedy hlavně hs-CRP, ke zlepšení stratifikace pacientů a predikci rizika nebo prognózy [Franecková, 2010]. Proto jsme také pro výpočet rizika KVO zvolili Reynoldsovo skóre, které počítá s hladinou CRP (a navíc s pozitivní rodinnou anamnézou).

Poněvadž pacienti s metabolickým syndromem jsou významně ohroženi vysokým rizikem kardiovaskulárního onemocnění, provedli jsme v další části bakalářské práce identifikaci osob s metabolickým syndromem pomocí definice Českého institutu pro metabolický syndrom [Češka, 2012; Karen et al., 2010]. Během této identifikace byla brána v potaz i léčba hypolipidemiky (statiny, fibráty, ezetimib (Ezetrol) a jeho kombinace se statiny (Inegy)) u vyšetřených osob. Z celé skupiny vyšetřených osob trpělo 47 % metabolickým syndromem. Z toho vyšetření muži trpěli metabolickým syndromem dokonce v 52 % a ženy pouze v 35 %. Většina osob s metabolickým syndromem, ať ženy či muži, měli přítomny 3 diagnostická kritéria, poměrně velká část mužů měla však čtyři diagnostická kritéria. Námi zjištěné procento osob s metabolickým syndromem je ještě vyšší, než se běžně udává pro dospělou populaci.

V další části bakalářské práci byl sledován vliv nezávislých rizikových faktorů na rozvoj kardiovaskulárního onemocnění a jejich korelace s klasickými rizikovými faktory.

Z analýzy vyplývá, že ve 49 % se u vyšetřené populace vyskytoval nezávislý rizikový faktor fosfolipáza asociovaná s lipoproteinem Lp-PLA₂. Jedná se o vaskulárně specifický zánětlivý enzym mající významnou roli v tvorbě vulnerabilních, k ruptuře náchylných aterosklerotických plátů. Tento enzym tvoří pojítko mezi oxidační modifikací LDL a zánětlivou odpovědí arteriální intimy. Lp-PLA₂ se projevuje vyšší vaskulární specifitou a intraindividuální variabilitou. Na rozdíl od hs-CRP není asociován s hodnotou BMI [Vaverková et al., 2011]. Laboratorní stanovení aktivity nebo hmotnostní koncentrace Lp-PLA₂ je považován za významný rizikový faktor

kardiovaskulárního onemocnění. Vliv tohoto rizikového faktoru je podobný jako u non-HDL cholesterolu nebo krevního tlaku i přesto, že se jeho vliv částečně projevuje prostřednictvím lipidů (je součástí lipoproteinů, hlavně LDL) [Rosenson, 2010]. Novodobé studie poukazují na schopnost Lp-PLA₂ nezávisle předvídat kardiovaskulární příhody a to i při adjustaci na hs-CRP a tradiční rizikové faktory. Z toho důvodu by se Lp-PLA₂ mohl stát významným ukazatelem rizika KVO hlavně u pacientů, kteří dosud nebyli na základě současných doporučení indikováni k dostatečně intenzivnímu ovlivnění klasických rizikových faktorů, hlavně hyperlipidémie [Vaverková et al., 2011]. Ke snížení koncentrace Lp-PLA₂ přispívají nejen režimová opatření, ale i většina hypolipidemik. Morbiditní a mortalitní studie STABILITY (Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy) sleduje selektivní inhibitor aktivity Lp-PLA₂ darapladib, který by mohl poukázat na kauzální roli Lp-PLA₂ v procesu aterogeneze [Vaverková et al., 2011]. Bohužel poslední výzkumy nepotvrdily účinnost podávání darapladibu v prevenci komplikací aterosklerózy [White et al., 2014]. Nejvýznamnější závislost fosfolipázy asociované s lipoproteinem byla sledována s aterogenním indexem, poměrem cholesterol/HDL cholesterol a nejmenší s LDL-cholesterolem a malým denzním LDL. Může to být dáno, že Lp-PLA₂ je obsažena v lipoproteinových částicích, i když větší podíl je v LDL než v LDL.

Druhým nejčastějším rizikovým faktorem, který se objevil ve 38 % u vyšetřených mužů a žen, byl lipoprotein (a). Jeho stanovení je doporučeno u osob se středním nebo vysokým rizikem kardiovaskulárního onemocnění. U osob nesoucích toto riziko je doporučeno udržovat hladinu lipoproteinu (a) pod 0,5 g/l podáváním např. niacinu [Nordestgaard et al., 2010]. Zvýšené riziko kardiovaskulární příhody (hlavně infarktu myokardu) je způsobeno genotypem Lp(a), který má za následek tvorbu Lp(a) s apolipoproteinem (a), obsahujícím opakování určitých úseků řetězce [Kamstrup et al., 2011]. Korelace lipoproteinu (a) a klasických rizikových faktorů byly statisticky nevýznamné. Tento fakt může být odrazem toho, že se jedná o skutečně nezávislý faktor, nehovoří to však nic o jeho významu v aterogenezi.

Nejmenší výskyt byl zaznamenán u malého denzního LDL (sd-LDL), který se objevil pouze u 16 % vyšetřovaných osob. U vyšetřených mužů to činilo 17,4 % a u žen pouhých 12,9 %. Tento poznatek neodpovídá Framinghamské studii, kde byla vyšší

hladina sd-LDL sledována u žen, nikoliv u mužů [Otokozawa et al, 2010]. Lipoproteiny obsahující apolipoprotein B (LDL, IDL a VLDL) a zvláště malé denzní LDL (sd-LDL) a oxidované LDL mají silný aterogenní účinek [Carmena et al., 2004]. Zvýšená koncentrace sd-LDL zvyšuje riziko koronárního onemocnění srdce třikrát. Obvykle doprovází hypertriglyceridémii, sníženou hladinu HDL-cholesterolu, abdominální obezitu, inzulinovou resistenci a další metabolické odchylky vedoucí k endotelové dysfunkci a sklonu k trombózám [Lamarche et al., 1999]. Z toho důvodu má stanovení hladiny sd-LDL význam pro stanovení rizika kardiovaskulárního onemocnění u osob s koronárním onemocněním srdce a především diabetiků, kde jsou hodnoty sd-LDL výrazně vyšší než u osob bez diabetu [Liansheng et al., 2011]. V našem případě však byli nemocní s diabetem dobře kompenzovaní (průměrná hodnota HbA_{1c} u 14 osob s diabetem byla v 50 mmol/mol). U malého denzního LDL byla nalezena statisticky významná korelace s LDL a dalšími parametry, které mají k hodnotě LDL významný vztah (apolipoprotein B, aterogenní index, poměr celkový cholesterol/HDL-cholesterol), navíc i s koncentrací triglyceridů. Zdá se tedy, že koncentrace sd-LDL nepřináší novou informaci a stanovení LDL či aterogenního indexu postačí.

Sledujeme-li výskyt „netradičních“ faktorů mezi osobami a nízkým až středním rizikem (Reynoldsovo skóre < 5 %), byla hodnota sd-LDL zvýšena jen v 17,5 % případů, naproti tomu Lp-PLA₂ u 35,1 % a Lp(a) dokonce u 45,6 % námi sledovaných osob. Jedině prospektivní studie, ukazující, zda u těchto osob v nadcházejících 10 letech dojde k závažné kardiovaskulární příhodě, by mohla rozhodnout, zda se jedná o skutečně významný nezávislý rizikový faktor KVO.

6 ZÁVĚR

Cílem předkládané bakalářské práce bylo určit riziko fatální kardiovaskulární příhody do 10 let u skupiny náhodně vybraných pacientů. Vyšetřovanou populaci tvořili muži a ženy středního věku bez klinických známek aterosklerózy, klienti lázeňského resortu Savoy v Karlových Varech.

Nejvýznamnějšími poznatky při zpracování bakalářské práce byly:

- Nejčastějším rizikovým faktorem u obou pohlaví byla hypercholesterolemie, následovaná pozitivní rodinnou anamnézou. Diabetes mellitus a snížená hladina HLD cholesterolu se vyskytovaly nejméně. Z vyšetřených osob tvořili 15 % kuřáci, ve všech případech se jednalo o muže. U mužů byla častěji než u žen stanovena zvýšená hladina hs-CRP.
- Největší počet vyšetřených osob spadalo do skupiny s < 5% rizikem fatální kardiovaskulární příhody do 10 let, nejmenší do nejrizikovější skupiny > 20% rizika KVO. Vyšetřené ženy měly v 87 % s < 5 % riziko, zbytek byl zařazen do skupiny s 5 – 10 % rizikem. Muži měli na rozdíl od žen vyšší riziko KVO, 39 % se řadilo do skupiny s 5 – 10 % rizikem, 10 % s 10 – 20 % rizikem a 7 % s více než 20% rizikem kardiovaskulárního onemocnění.
- Populace vyšetřených žen trpěla v 35 % metabolickým syndromem. Většina z nich má přítomna 3 diagnostická kritéria, stejně jako vyšetření muži, kteří měli metabolický syndrom v 52 % a častěji než ženy splňovali více kritérií.
- Procentuální zastoupení nových „netradičních“ rizikových faktorů ve vyšetřené populaci bylo nejvyšší u fosfolipázy asociované s lipoproteinem (49 %), menší u lipoproteinu (a) (38 %) a nejméně byla zastoupená zvýšená hladina malých denzních LDL (jen 16 %). Patologická hodnota Lp(a) se častěji našla u žen, zatímco zastoupení zvýšené koncentrace Lp-PLA₂ bylo významně vyšší v subpopulaci mužů.

- Statisticky nejvýznamnější byly korelace fosfolipázy asociované s lipoproteinem s aterogenním indexem, poměrem celkový cholesterol/HDL-cholesterol, LDL cholesterolem a s malým denzním LDL.

V případě malého denzního LDL byla největší asociace s apolipoproteinem B, aterogenním indexem, poměrem celkový cholesterol/HDL-cholesterol, s LDL cholesterolem a s triglyceridy.

Významná korelace lipoproteinů (a) s klasickými rizikovými faktory nebyla prokázána.

- Při srovnání osob s nízkým až středním rizikem KVO (< 5 %) se skupinou osob s vysokým až velmi vysokým rizikem KVO (> 5 %) se významně lišil výskyt rizikových faktorů, z nichž se počítá Reynoldsovo skóre (věk, poměr celkový/HDL-cholesterol, systolický krevní tlak, CRP). Lišila se i koncentrace některých dalších „klasických“ rizikových faktorů, s kterými Reynoldsovo skóre nepočítá, jsou však typické pro osoby s metabolickým syndromem; byly to kyselina močová, BMI a triglyceridy).
- Při srovnání výskytu netradičních rizikových faktorů u těchto dvou skupin podle výše rizika KVO měly osoby s vysokým až velmi vysokým rizikem významně vyšší hladinu Lp-PLA₂, zatímco se koncentrace Lp(a) a sd-LDL se v těchto dvou skupinách nelišila.
- Za použití vícečetné regrese nejevily Lp(a) a sd-LDL nejevily žádný vztah k Reynoldsovu skóre, u Lp-PLA₂ se vztah ukázal statisticky významný, avšak klinicky zanedbatelný prediktivní význam Lp-PLA₂ pro odhad skóre rizika KVO.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. AI, M., S. OTOKOZAWA, B. F. ASZTALOS, Y. ITO, K. NAKAJIMA, C. C. WHITE, L. A. CUPPLES, P. W. WILSON a E. J. SCHAEFER. Small Dense LDL Cholesterol and Coronary Heart Disease: Results from the Framingham Offspring Study. *Clinical Chemistry*. 2010-05-28, vol. 56, issue 6, s. 967-976. DOI: 10.1373/clinchem.2009.137489. Dostupné z: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2009.137489>
2. Astra Zeneca. ČSAT: Česká společnost pro aterosklerózu [online]. 2014 [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.athero.cz/cze/odkazy-a-zdroje/vypocet-rizika.php?page=tabulky-rizika-podle-projektu-SCORE>
3. BRUTHANS, Jan. Vliv prevence a léčby na pokles úmrtnosti na ICHS, analýza efektu skupin farmak [online]. 2010[cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/vliv-prevence-a-lecby-na-pokles-umrtnosti-na-ichs-analyza-efektu-skupin-farmak-454032>
4. CARMENA, R. Atherogenic Lipoprotein Particles in Atherosclerosis. *Circulation*. 2004-06-15, vol. 109, 23_suppl_1, III-2-III-7. DOI: 10.1161/01.CIR.0000131511.50734.44. Dostupné z: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.0000131511.50734.44>
5. CÍFKOVÁ, Renata, Svatopluk BÍMA, Richard ČEŠKA, Karel HORKÝ, Igor KAREN, Marie KUNEŠOVÁ, Eva KRÁLÍKOVÁ, Hana ROSLOVÁ, Karel ROZTOČIL, Vladimír SOŠKA a Jan ŠKRHA. *Prevence kardiovaskulárních onemocnění v dospělém věku: Společné doporučení českých odborných společností* [online]. 2005[cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/kbm/kbm-2005-13-4-212-224.pdf>
6. CÍFKOVÁ, Renata. *Epidemiologie kardiovaskulárních onemocnění* [online]. 2006[cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/epidemiologie-kardiovaskularnich-onemocneni-172591>

7. Český institut metabolického syndromu, o.p.s. [online]. 2014 [cit. 2014-04-07]. Dostupné z: <http://www.cims-ops.cz/>
8. ČEŠKA, Richard, Otto HERBER, Jana SKOUPÁ, Tomáš ŠTULC, Svatopluk BÝMA, Igor KAREN a Bohumil SEIFERT. *Dyslipidémie: doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře : 2004* [online]. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2004, 10 s.[cit. 2014-02-26]. Doporučené postupy pro všeobecné praktické lékaře. ISBN 80-903-5734-2. Dostupné z: http://www.svl.cz/Files/nastenka/page_4766/Version1/Dyslipidemie.pdf
9. ČEŠKA, Richard. *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií*. Vyd. 4., V Tritonu 2. Praha: Triton, 2012, 406 s. ISBN 978-807-3875-992.
10. ČEŠKA, Richard. *Cholesterol a ateroskleróza: léčba hyperlipidemií*. 2. přeprac. vyd. Praha: MAXDORF, 1999, 226 s. Jessenius. ISBN 80-858-0095-0.
11. DiaDexus. *PLAC: Test for Lp-PLA2* [online]. 2014 [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.plactest.com/laboratories/index.html>
12. FRANEKOVÁ, Janka a Antonín JABOR. *Fosfolipáza A2 asociovaná s lipoproteiny – nový marker kardiovaskulárního rizika* [online]. 2010[cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/fosfolipaza-a2-asociovana-s-lipoproteiny-novy-marker-kardiovaskularniho-rizika-454141>
13. GANDALOVIČOVÁ, Jana. Nový směr prevence akutních koronárních syndromů: Identifikace a stabilizace vysoce rizikového aterosklerotického plátu. *SOLEN*. 2002, č. 2, s. 72-77. Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/int/2002/02/07.pdf>
14. MASOPUST, Jaroslav. Smíšená dyslipidémie - 1.část: Lipidové kvarteto, aterogenní lipidy. *Labor Aktuell: Časopis pro klienty Roche Diagnostics*. 2011, č. 1, s. 4-9.

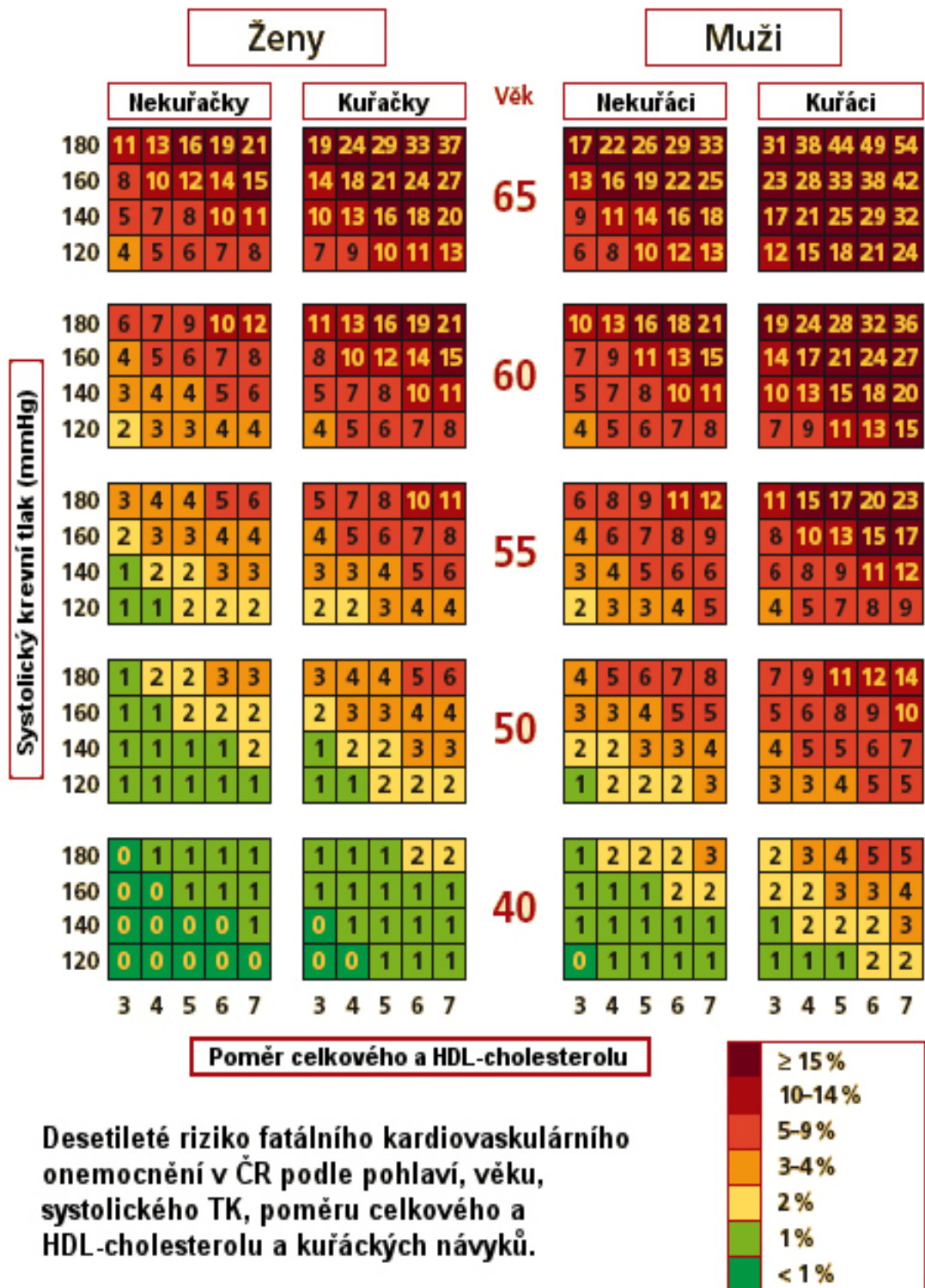
15. MASOPUST, Jaroslav. Smíšená dyslipidémie - 2.část: Sdružené choroby jako diabetes mellitus 2.typu, obezita, kardiovaskulární onemocnění. *Labor Aktuell: Časopis pro klienty Roche Diagnostics*. 2011, č. 2, s. 4-10.
16. KAREN, Igor, Miroslav SOUŠEK, Vladimír BLÁHA, Terezie PELIKÁNOVÁ, Hana ROSOLOVÁ, Vladimír SOŠKA a Petr SUCHARDA. *Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře: Metabolický syndrom- diagnotika a léčba* [online]. 2010[cit. 2014-03-09]. Dostupné z: http://www.svl.cz/Files/nastenka/page_4771/Version1/MS-2010.pdf
17. KOENIG, W., M. SUND, M. FROHLICH, H.-G. FISCHER, H. LOWEL, A. DORING, W. L. HUTCHINSON a M. B. PEPYS. C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men: Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* [online]. 1999-01-19, vol. 99, issue 2, s. 237-242 [cit. 2014-04-09]. DOI: 10.1161/01.CIR.99.2.237. Dostupné z: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.99.2.237>
18. KAMSTRUP PR, TYBJAERG-HANSEN A, NORDESTGAARD BG: Lipoprotein (a) and risk of myocardial infarction- genetic epidemiologic evidence of causality. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71(2):87-93
19. LAMARCHE B, LEMIEUX I, DESPRÉS JP: The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab* 1999; 25(3):199-211
20. LIANSHENG W, XING Z, YUQI F, FUXIANG C: The detection of serum sdLDL-C in the CAD patients and clinical application. *Heart* 2011;97(Suppl. 3):A244
21. MASOPUST, Jaroslav. Familiární hypercholesterolemie. *Labor Aktuell: Časopis pro klienty Roche Diagnostics*. 2012, č. 2, s. 13-17.

22. MEDISTA. *PLAC test* [online]. 2014 [cit. 2014-03-10]. Dostupné z:
<http://www.medista.cz/plac-test/>
23. NORDESTGAARD, B. G., M. J. CHAPMAN, K. RAY, J. BOREN, F. ANDREOTTI, G. F. WATTS, H. GINSBERG, P. AMARENCO, A. CATAPANO, O. S. DESCAMPS, E. FISHER, P. T. KOVANEN, J. A. KUIVENHOVEN, P. LESNIK, L. MASANA, Z. REINER, M.-R. TASKINEN, L. TOKGOZOGLU a A. TYBJAERG-HANSEN. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *European Heart Journal*. 2010-12-01, vol. 31, issue 23, s. 2844-2853. DOI: 10.1093/eurheartj/ehq386. Dostupné z:
<http://eurheartj.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/eurheartj/ehq386>
24. RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie. 2.*, přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006, 329 s. ISBN 80-726-2324-9.
25. RACEK, Jaroslav. Oxidované LDL a ateroskleróza. *Labor Aktuell: Časopis pro klienty Roche Diagnostics*. 2010, č. 3, s. 12-15.
26. Reynoldsovo skóre 10letého rizika kardiovaskulárního onemocnění u mužů a žen. *NASKL* [online]. 2005-2014 [cit. 2014-04-03]. Dostupné z:
<http://www.naskl.cz/vzdelavani/kalkulatory/Reynolds/Reynolds.htm>
27. ROSENSON RS: Lipoprotein- associated phospholipase A₂ and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *The Lancet* 2010;375(9725):1536-44
28. SOŠKA, V., H. VAVERKOVÁ, M. VRABLÍK, V. BLÁHA, R. CÍFKOVÁ, T. FREIBERGER, P. KRAML, J. PÍTHA, H. ROSLOVÁ, T. ŠTULC, Z. URBANOVÁ. Stanovisko výboru ČSAT k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií z roku 2011. *Hypertenze & kardiovaskulární prevence*. 2013, vol. 2, č. 4, s. 26-31

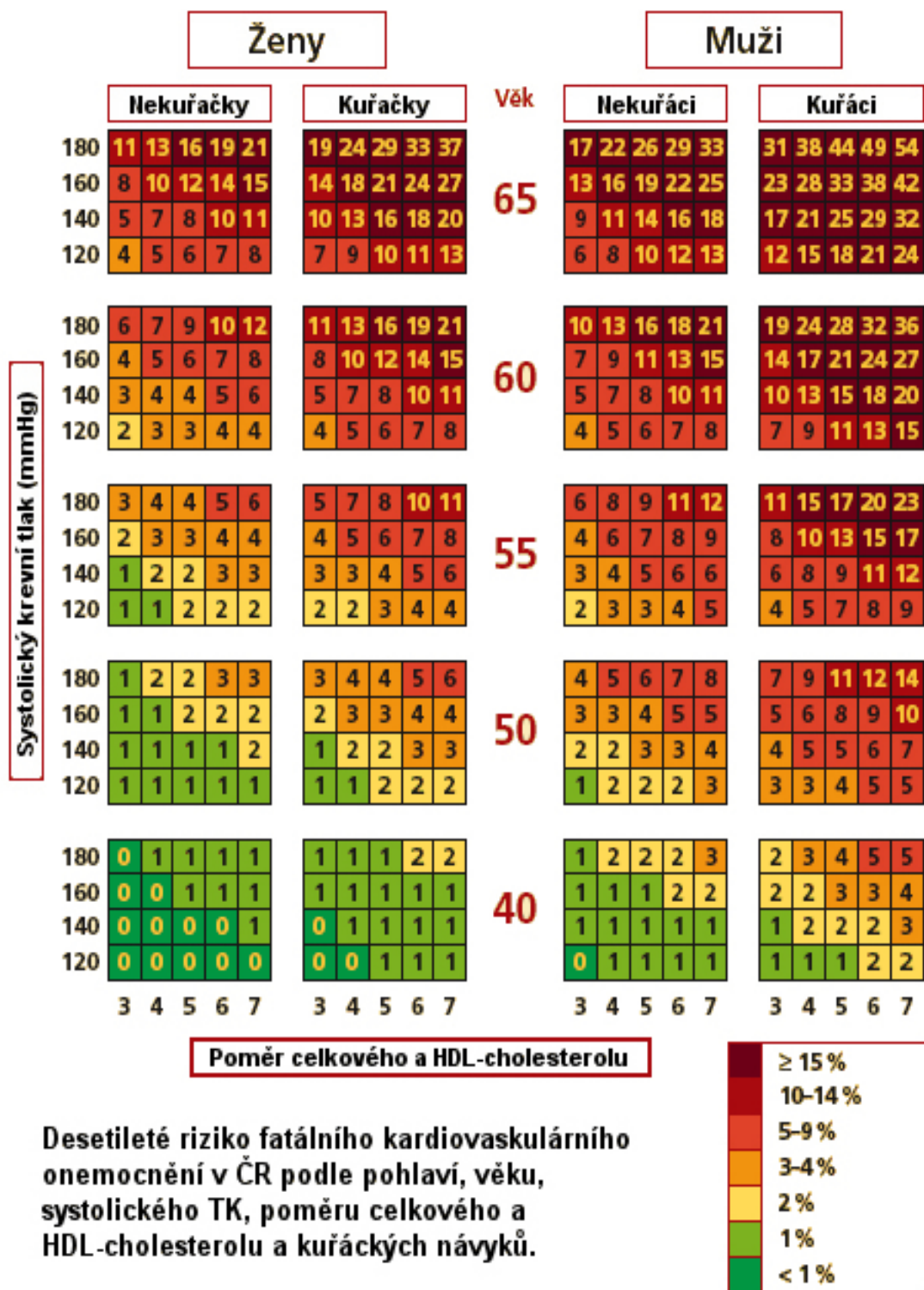
29. ŠPRONGL, Luděk a Martin RADINA. Vysoce citlivé stanovení CRP - teorie a možnosti. *Labor Aktuell* [online]. 2003, č. 1, s. 5-7 [cit. 2014-03-10]. Dostupné z: <http://www.roche-diagnostics.cz/download/la/0103/crp.pdf>
30. The world health organization monica project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): A major international collaboration: WHO MONICA Project Principal Investigators. *Journal of Clinical Epidemiology* [online]. 1988, č. 2 [cit. 2014-04-09]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0895435688900844>
31. URBANOVÁ, Zuzana, Milan ŠAMÁNEK, Tomáš FREIBERGER, Richard ČEŠKA, Rudolf POLEDNE, Renata CIFKOVÁ, Helena VAVERKOVÁ, Hana ROSOLOVÁ, Vladimír SOŠKA, Jan PÍTHA, Tomáš ŠTULC a Michal VRÁBLÍK. Doporučení pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií u dětí a dospívajících, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu. *Cor Vasa*. 2008, roč. 50, č. 2, K41-K47.
32. VEVERKOVÁ, Helena, Vladimír SOŠKA, Hana ROSOLOVÁ, Richard ČEŠKA, Renata CÍFKOVÁ, Tomáš FREIBERGER, Jan PÍTHA, Rudolf POLEDNE, Tomáš ŠTULC, Zuzana URBANOVÁ a Michal VRÁBLÍK. *Doporučení pro diagnostiku a léčbu dyslipidémie v dospělosti, vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu* [online]. 2007[cit. 2014-03-09]. Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/Dop_atero-07.pdf
33. VAVERKOVÁ Helena a David KARÁSEK: Fosfolipáza A2 asociovaná s lipoproteiny (Lp-PLA2) jako ukazatel aktivity aterosklerózy a potenciální terapeutický cíl. *Cor Vasa* 2011;53:234-8
34. VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2., opravené vydání. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.
35. VOET, Donald. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: VICTORIA PUBLISHING, 1995, 1325 s. ISBN 80-856-0544-9.

36. WHITE, HARVEY D., CLAES HELD, RALPH STEWART, ET AL. Darapladib for Preventing Ischemic Events in Stable Coronary Heart Disease. *The New England Journal of Medicine*. 2014, March 30. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1315878>
37. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3. vydání. Praha: Galen, 2012. ISBN 978-80-7492-062-2.
38. ŽÁK, Aleš a Jaroslav MACÁŠEK. *Ateroskleróza: nové pohledy*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011, 183 s., viii s. barev. obr. příl. ISBN 978-802-4730-523.

8 PŘÍLOHA



Obr. 7: Tabulky rizika podle projektu SCORE. Převzato z <http://www.athero.cz/cze/odkazy-a-zdroje/vypocet-rizika.php?page=tabulky-rizika-podle-projektu-SCORE>



Obr. 8: Tabulky rizika podle projektu SCORE. Převzato z <http://www.athero.cz/cze/odkazy-a-zdroje/vypocet-rizika.php?page=tabulky-rizika-podle-projektu-SCORE>