

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
MEDICINOS FAKULTETAS
LABORATORINĖS MEDICINOS BIOLOGIJA
ANTROS PAKOPOS STUDIJS

Lina Adomaitienė

LIPEMIJOS ĮTAKA BIOCHEMINIŲ TYRIMŲ REZULTATAMS
Baigiamasis magistro darbas

Darbo vadovas
doc. dr. Erika Skrodenienė

Kaunas, 2017 m.

TURINYS

SANTRAUKA.....	3
SUMMARY.....	5
PADĖKA.....	7
INTERESŲ KONFLIKTAS.....	8
ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS.....	9
SANTRUMPŲ SĄRAŠAS.....	10
ĮVADAS.....	12
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	13
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	14
1.1. Kraujo plazmos lipidai ir lipoproteinai, jų apykaita.....	14
1.1.1. Chilomikronai.....	15
1.1.2. Labai mažo tankio lipoproteinai.....	15
1.1.3. Mažo tankio lipoproteinai.....	16
1.1.4. Didelio tankio lipoproteinai.....	17
1.2. Kraujo plazmos ir serumo lipeminė interferencija.....	17
1.2.1. Lipemijos priežastys.....	17
1.2.2. Lipemijos intensyvumo nustatymo metodai.....	18
1.2.3. Lipemijos reikšmė laboratorinių tyrimų rezultatams.....	19
1.2.4. Lipemijos pašalinimo metodai.....	21
2. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI.....	23
2.1. Tiriamoji medžiaga.....	23
2.2. Kraujo serumo ar plazmos ėminiai.....	23
2.3. Kraujo serumo ar plazmos mėginių ruošimas ir laikymas.....	23
2.4. Tyrimo metodai.....	23
2.4.1. Tiriamosios analizės ir jų tyrimo metodai.....	23
2.4.2. Lipeminės interferencijos tyrimo principas ir darbo eiga.....	26
2.5. Statistinė duomenų analizė.....	26
3. REZULTATAI.....	28
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	35
IŠVADOS.....	37
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	38

SANTRAUKA

Lina Adomaitienė. „Lipemijos įtaka biocheminių tyrimų rezultatams“.

Tyrimo tikslas: Nustatyti lipemijos įtaką biocheminių tyrimų rezultatams.

Tyrimo uždaviniai: 1. Įvertinti lipemijos įtaką elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais atliekamų tyrimų rezultatams; 2. Įvertinti lipemijos poveikio tyrimų rezultatams stiprumą; 3. Įvertinti lipemijos dydžio įtaką įvairiais metodais atliekamų tyrimų rezultatams.

Metodika: Į tyrimą buvo įtraukti 127 vizualiai atrinkti lipeminiai kraujo serumo ar plazmos mėginiai. Tiriamųjų kraujo serumo ir plazmos mėginių trigliceridų koncentracija buvo 2,08–93,35 mmol/l. Mėginiuose tirta kalio, natrio, šlapalo, kreatinino, bendro baltymo, albumino, bendro bilirubino, ALT, AST, GGT, magnio, CRB, IgA, IgG ir IgM koncentracija prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear (StatSpin, Iris JAV) reagentu. Analizių koncentracija tirta klinikinės chemijos automatinė sistema Synchron UniCell DxC 800 (Beckman Coulter, JAV). Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant „IBM SPSS Statistics 23.0“ programinę įrangą. Dviejų priklausomų imčių palyginimui, kai kintamieji turi normalųjį skirstinį, naudotas porinis *Student'o t* – testas, kintamiesiems, neturintiems normaliojo skirstinio – *Wilcoxon'o* testas. Statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių apibrėžtas, jei reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$. Lipemijos poveikio stiprumo dydis (r) apskaičiuotas pagal *Cohen'o* kriterijų: $r = 0,1$ – silpnas; $r = 0,3$ – vidutinis; $r = 0,5$ – stiprus poveikis.

Tyrimo rezultatai: Nustatyta, kad visų tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu, tiriant elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais ($p < 0,001$). Mėginio lipemija, kai TG koncentracija buvo $\leq 2,5$ mmol/l, patikimai reikšmingai paveikė keletos spektrofotometriniais metodais atliekamų tyrimų, bendro baltymo ($p = 0,046$) ir alaninaminotransferazės ($p = 0,027$) bei daugumos turbidimetriniu metodu atliekamų tyrimų, IgA, IgM ir IgG ($p = 0,018$) rezultatus. Nustatyta patikimai reikšminga lipemijos įtaka visų tirtų analizių rezultatams, išskyrus kalį ir šlapalą, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose buvo $\leq 3,39$ mmol/l ($p < 0,05$). $\leq 4,0$ ir $\leq 5,0$ mmol/l trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose patikimai reikšmingai įtakojo visų tirtų analizių, išskyrus kalį, rezultatus ($p < 0,05$). $\leq 6,0$ mmol/l trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose statistiškai reikšmingai paveikė visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių rezultatus ($p < 0,05$). Remiantis *Cohen'o* kriterijumi, lipemijos poveikio stiprumas tirtų analizių rezultatams buvo nuo silpno ($r = 0,1$) iki stipraus ($r = 0,5$). Nustatyta, kad lipemija patikimai reikšmingai didino visų spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių, išskyrus kreatininą ir albuminą, rezultatus bei patikimai reikšmingai mažino elektrocheminiais metodais tirtų analizių rezultatus ($p < 0,001$).

Išvados: 1. Visais elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių rezultatai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apvalymo LipoClear reagentu; 2. Lipemija vidutiniškai įtakojo kalio ir šlapalo koncentracijų sumažėjimą bei bendro baltymo, bendro bilirubino, ALT ir AST koncentracijų padidėjimą, stipriai mažino natrio, kreatinino, albumino bei didino GGT, magnio, CRB, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus; 3. Lipemijos įtaka tyrimo rezultatams priklauso nuo trigliceridų koncentracijos. Mėginio lipemija, kai TG koncentracija buvo $\leq 2,5$ mmol/l įtakojo daugumą turbidimetriiniu metodu atliekamų tyrimų (imunoglobulinų) rezultatus ir keletos spektrofotometriniais metodais atliekamų tyrimų (bendro baltymo, ALT) rezultatus, o $TG \leq 3,39$ mmol/l jau įtakojo visų, išskyrus elektrocheminiais metodais atliktų tyrimų (kalio ir šlapalo) rezultatus.

SUMMARY

Lina Adomaitienė. „Influence of lipemia to biochemical tests results“.

Aim of the research: To determine the influence of lipemia for biochemical tests results.

Objectives: 1. To identify the influence of lipemia to electrochemical, spectrophotometric and turbidimetric methods and how they effect the results. 2. To determine the impact of lipemia strength on research results. 3. To estimate the impact of lipemia size on various methods for test results.

Methods and study subjects: We tested 127 visual selected lipemic blood serums or plasma samples. Triglycerides concentration was ranging from 2,08 to 93,35 mmol/L. The effect of lipemia interference was evaluated on potassium, sodium, urea, creatinine, total protein, albumin, total bilirubin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, magnesium, C – reactive protein, IgA, IgG and IgM concentration. Each analyte was determined before and after treatment with LipoClear (StatSpin, Iris, USA). Analytes concentration was determined on the Synchron UniCell Dx C 800 (Beckman Coulter, USA) analyzer. The significance of differences was calculated using the *Student t* and *Wilcoxon* matched pair test (IBM SPSS Statistics 23.0). Differences comparing the groups were considered statistically significant then p value was less than 0,05. The effect size (r) was evaluated according to Cohen criteria: r=0,1 – small size effect; r=0,3 – medium size effect; r=0,5 – large size effect.

Results: We have found significant differences before and after lipid extraction in lipemic serum or plasma samples in all analytes of electrochemical, spectrophotometric and turbidimetric methods ($p < 0,001$). Significant lipemic interference was evaluated on total protein ($p = 0,046$), ALT ($p = 0,027$), IgA, IgG and IgM results ($p = 0,018$) then triglyceride concentration was $\leq 2,5$ mmol/L. Significant lipemic effect was found in all analytes, except potassium and urea, then triglycerides concentration in lipemic serum or plasma samples was $\leq 3,39$ mmol/L ($p < 0,05$). $\leq 5,0$ mmol/L triglyceride concentration significantly effect all analyte results ($p < 0,05$), except for potassium, as well as for $\leq 6,0$ mmol/L triglyceride concentration seriously effect all analyte results ($p < 0,05$). According to Cohen criteria, lipemia effect size range was from small ($r = 0,1$) to large ($r = 0,5$). We found that lipemia significantly increased all results of spectrophotometric and turbidimetric methods, except for creatinine and albumin, and clearly decreased results of electrochemical methods ($p < 0,001$).

Conclusions: 1. In all electrochemical, spectrophotometric and turbidimetric methods tested analyte results were significantly different before and after the preparation of LipoClear reagent; 2. Lipemia averagely influenced the concentration decreases of potassium and urea, although it increased the total protein, total bilirubin, ALT and AST test results. Research results were strongly reduced for

sodium, creatinine and albumin, but they increased for GGT, magnesium, CRP, IgA, IgG and IgM. 3. The influence of the lipemia to test results depends on the triglyceride concentration. Lipemic sample, then TG concentration $\leq 2,5$ mmol/l affected most of turbidimetric method based research (immunoglobulins) results and few spectrophotometric method based research (total protein, ALT) results, however then TG is $\leq 3,39$ mmol/l, it have influenced all the results, except the electrochemical method based research (potassium and urea) results.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju savo darbo vadovei doc. dr. Erikai Skrodenienei už pagalbą ruošiant šį baigiamąjį magistrinį darbą, pagrindines idėjas, kritines pastabas, vertingus patarimus ir palaikymą.

Taip pat dėkoju visam LSMU ligoninės Kauno klinikų, Klinikinės chemijos laboratorijos kolektyvui už nuoširdų bendravimą, puikią darbo atmosferą, praktinius bei vertingus patarimus.

INTERESŲ KONFLIKTAS

Autoriui interesų konflikto nebuvo.

ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Bioetikos centras

Leidimo Nr.: BEC – LMB(M) – 215

Išdavimo data: 2016-01-20

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

ADTL	– Dalinis aktyvintas tromboplastino laikas
ALT	– Alaninaminotransferazė
AST	– Aspartataminotransferazė
CA 125	– Kiaušidžių vėžio žymuo
CA 15-3	– Krūties vėžio žymuo
CEA	– Karcinoembrioninis antigenas
CK-MB	– Kreatinkinazės MB izofermentas
CRB	– C reaktyvus baltymas
DTL	– Didelio tankio lipoproteinai
FII	– Krešėjimo faktorius protrombinas
FVII	– Krešėjimo faktorius prokonvertinas
FVIIa	– Aktyvuotas krešėjimo faktorius prokonvertinas
FIX	– Christmas krešėjimo faktorius
FX	– Stuart-Prower krešėjimo faktorius
FXIIa	– Aktyvuotas Hagemano krešėjimo faktorius
FSH	– Folikulus stimuliuojantis hormonas
<i>g</i>	– Išcentrinė jėga
GGT	– γ – gliutamiltransferazė
hCG	– Žmogaus chorioninis gonadotropinas
Ig	– Imunoglobulinas
JAV	– Jungtinės Amerikos Valstijos
K	– Kalis
kD	– Kilodaltonas
LH	– Liuteinizuojantis hormonas
LMTL	– Labai mažo tankio lipoproteinai
LSMU	– Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
LT4	– Laisvas tiroksinas
Mg	– Magnis
MTL	– Mažo tankio lipoproteinai
Na	– Natris
NaCl	– Natrio chloridas
nm	– Nanometras

NT-proBNP	– Neaktyvi B tipo natriuretinio peptido forma
PSA	– Prostatos specifinis antigenas
PT	– Protrombino laikas
Proc.	– Procentai
T3	– Trijodtironinas
TBIL	– Bendras bilirubinas
TG	– Trigliceridai
TTH	– Tireotropinis hormonas
TTL	– Tarpinio tankio lipoproteinai
ŽIV-1/2	– Žmogaus imunodeficito virusas

IVADAS

Šiuolaikinėje ligų diagnostikoje 70 proc. atvejų remiamasi tik laboratorinių tyrimų rezultatais, prognozuojančiais žmogaus organizmo pokyčius [1]. Vienas pagrindinių tyrimų yra biocheminis veninio kraujo tyrimas, kuris leidžia išsamiau analizuoti organizme vykstančius pokyčius [2]. Kadangi laboratoriniai tyrimai įtraukiami į beveik visų diagnozių ir gydymo pritaikymo algoritmus, palyginti neseniai atkreiptas dėmesys į laboratorijos klaidų svarbą ir jų neigiamą poveikį paciento sveikatai [3]. Visą laboratorinių tyrimų organizacinį procesą sudaro trys laboratorinio tyrimo etapai: ikianalizinis, analizinis ir poanalizinis [4]. Ikianalizinis etapas sudaro didžiausią viso laboratorinio proceso dalį (58 proc.), t.y. apima visus veiksmus nuo tinkamo tyrimo parinkimo iki analizės [1]. Taigi laboratorinėje klinikinėje praktikoje analizinio etapo kokybė iš dalies priklauso nuo tiriamojo mėginio kokybės, kurią gali įtakoti endogeninių ar egzogeninių medžiagų buvimas tiriamajame mėginyje [5].

Pagrindinės endogeninės priežastys sukeliančios mėginio interferenciją yra lipemija, hemolizė, bilirubinemija ir paraproteinemija [6]. Po hemolizės, lipemija yra antras pagal dažnumą laboratorinėje klinikinėje praktikoje pasitaikančių interferencinių veiksnių galinčių sąlygoti biocheminių tyrimų rezultatų tikslumą [7,8]. Remiantis literatūros duomenimis bendras lipeminių mėginių kiekis laboratorijose sudaro 0,5–2,5 proc. [9,10]. Dažniausiai lipeminę interferenciją sukelia riebaus maisto vartojimas, alkoholis, lipidų infuzija ar sutrikęs lipoproteinų metabolizmas. Neretai lipemija gali būti antrinė kitų ligų būklė [11,12]. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad lipemija gali įtakoti daugumos laboratorijoje atliekamų rutininių tyrimų rezultatus. Dėl lipoproteinų dalelių, dažniausiai chilomikronų ir labai mažo tankio lipoproteinų, gebėjimo išsklaidyti ir sugerti šviesą, labiausiai paveikiami optiniais metodais (fotometriniais, spektrofotometriniais, nefelometriniais, turbidimetriniais ir kt.) tiriamų analizių rezultatai [13,14].

Svarbu tai, kad lipemija gali būti nustatoma dar ikianaliziniam tarpsnyje, remiantis vizualiniais mėginio pokyčiais, ir priešingai nei kitos analitinės interferencijos, pašalinama įvairiais metodais – skiedimu, ultracentrifugavimu, reagentais surišančiais lipoproteinus ir kt., taip sumažinant klaidingai padidėjusių ar sumažėjusių tyrimų rezultatų tikimybę [15–18].

Duomenų apie lipemijos įtaką biocheminių tyrimų rezultatams nėra daug. Todėl šis tiriamasis darbas buvo atliktas siekiant išsiaiškinti ir numatyti galimą potencialią lipemijos įtaką rutiniškai laboratorijoje atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Tyrimo tikslas: nustatyti lipemijos įtaką biocheminių tyrimų rezultatams.

Tyrimo uždaviniai:

1. Įvertinti lipemijos įtaką elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais atliekamų tyrimų rezultatams;
2. Įvertinti lipemijos poveikio tyrimų rezultatams stiprumą;
3. Įvertinti lipemijos dydžio įtaką įvairiais metodais atliekamų tyrimų rezultatams.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Kraujo plazmos lipidai ir lipoproteinai, jų apykaita

Lipidai – tai natūraliai susidarantys organiniai junginiai, blogai tirpstantys vandenyje, tačiau gerai tirpstantys organiniuose tirpikliuose. Remiantis chemine struktūra skiriamos keturios pagrindinės kraujo plazmos lipidų klasės: cholesterolis, cholesterolio esteriai, triacilgliceroliai (trigliceridai) ir fosfolipidai [19,20]. Kraujo plazmos lipidams jungiantis su specifiniais baltymais apolipoproteinais, susidaro lipidų ir baltymo kompleksai – lipoproteinai, atliekantys kraujo plazmos lipidų pernašos funkciją organizme [21].

Kraujo plazmos lipoproteinai yra rutulio formos, jų dydis varijuoja nuo 10 iki 1200 nm, kuris yra atvirkščiai proporcingas jų tankiui [22]. Šerdinę lipoproteinų dalį sudaro nepoliniai lipidai – trigliceridai ir cholesterolio esteriai, kurie iš išorės apgaubti hidrofiliniu sluoksniu, sudarytu iš baltymų ir polinių lipidų – fosfolipidų ir cholesterolio. Tokia specifinė lipidų-baltymų komplekso struktūra lemia lipidų tirpumą vandenyje [23].

Lipidų tankis yra mažesnis nei vandens, todėl kuo daugiau lipidų turi lipoproteinai, tuo mažesnis jų tankis. Remiantis šia savybe įvairias lipoproteinų daleles galima išskirti ultracentrifuguojant į skirtingo tankio frakcijas: 1) chilomikronus; 2) labai mažo tankio lipoproteinus (LMTL); 3) mažo tankio lipoproteinus (MTL) ir 4) didelio tankio lipoproteinus (DTL) (1 lentelė).

1 lentelė. Pagrindinių kraujo lipoproteinų klasifikacija ir charakteristika [22,24]

Charakteristika, (mat. vnt.)	Chilomikronai	LMTL	MTL	DTL
Tankis, (g/ml)	<0,93	0,93–1,006	1,019–1,063	1,063–1,21
Molekulinė masė, (kD)	$(0,4–30) \times 10^9$	$(10–80) \times 10^6$	$2,75 \times 10^6$	$(1,75–3,6) \times 10^5$
Skersmuo, (nm)	80–1200	30–80	18–30	5–12
Baltymai, (proc.)	1,5–2	7–10	21–25	50
Trigliceridai, (proc.)	84	44–60	11	3
Cholesterolis, (proc.)	7	16–22	62	19
Fosfolipidai, (proc.)	0,8	18	10	30
Funkcija	Egzogeninių triacilglicerolių pernaša	Endogeninių triacilglicerolių pernaša	Cholesterolio pernaša į periferinius audinius	Cholesterolio pernaša iš periferinių audinių į kepenis

Kraujo plazmos lipoproteinai organizme nuolat kinta, yra skaidomi ir pakeičiami naujomis susintetintomis lipoproteinų dalelėmis. Taigi tam tikros klasės lipoproteinų koncentracija kraujo plazmoje – tai pusiausvyros būklė tarp jų sintezės ir skilimo greičių.

Kasdien su maistu vidutiniškai gaunama apie 90 g riebalų ir 700 mg cholesterolio. Riebalai sudaro apie 30 proc. visos su maistu gaunamos energijos. Jie virškinami plonojoje žarnoje. Tokiu būdu susidarę monoacilgliceroliai ir riebalų rūgštys, veikiamos tulžies rūgščių, yra absorbuojami plonosios žarnos gleivinės ląstelių, kuriose vyksta triacilglicerolių resintezė. Po resintezės triacilgliceroliai, taip pat cholesterolis, fosfolipidai ir specifiniai apolipoproteinai suformuoja dalelę – micelę, vadinamą chilomikronu [25].

1.1.1. Chilomikronai

Chilomikronai – dideli, turintys didesnę negu 1200 nm diametrą, trigliceridais turtingi lipoproteinai, susidarantys žmogaus žarnyno epitelio ląstelėse – enterocituose [26,27]. Hussain M. ir jo kolegų atliktų tyrimų duomenimis chilomikronų šerdį sudaro trigliceridai ir monogliceridai (85–92 proc.), cholesterolis ir cholesterolio esteriai (1–3 proc.), fosfolipidai (6–12 proc.) bei riebalų rūgščių pėdsakai [28]. Iš išorės chilomikronus dengia baltymai apolipoproteinai, lemiantys intraląstelinę ir ekstraląstelinę lipoproteinų apykaitą [26].

Chilomikronai aptinkami limfoje ir kraujo plazmoje riebiai pavalgius. Dėl chilomikroninės dalelės didelio dydžio jie atspindi šviesą ir sukelia drumstumą. Todėl limfa ar plazma, kurioje gausu chilomikronų yra drumsta, pieno spalvos. Palaikius surinktą plazmą ar serumą 14–18 valandų, chilomikronai flotuoja ir sudaro grietinėlės konsistencijos sluoksnį, kuris yra laikomas chilomikronų buvimo žymeniu. Žinoma, kad chilomikronų gyvavimo pusperiodis žmogaus organizme siekia apie 1 valandą. Taigi chilomikronų apykaita yra labai greita ir 8–12 valandų nevalgiusio (po nakties badavimo) žmogaus kraujo plazmoje chilomikronų neturi būti, badaujant kraujo plazmoje jų neaptinkama [25,29].

Pagrindinė chilomikronų funkcija – pristatyti maistinės kilmės trigliceridus ir cholesterolį į kepenis ir periferines ląsteles. Patekę į kraujotaką, chilomikronuose esantys trigliceridai ir cholesterolio esteriai yra hidrolizuojami lipazių ir per keletą valandų yra transformuojami į chilomikronines daleles – remnantus, kurios yra atpažįstamos proteoglikanų ir specifinių receptorių kepenyse, palengvinančių jų įsisavinimą [27].

1.1.2. Labai mažo tankio lipoproteinai

Dauguma kraujo plazmos LMTL susidaro kepenų parenchiminėse ląstelėse ir yra pagrindiniai endogeninių (nemaistinės kilmės) trigliceridų nešėjai iš kepenų į periferinius audinius [21]. Literatūros šaltiniuose nurodoma, kad LMTL sudėtyje yra 50 proc. trigliceridų, 40 proc. cholesterolio ir fosfolipidų,

apie 10 proc. baltymų – apolipoproteinų. Dėl mažesnio lipidų-baltymų santykio LMTL yra didesnio tankio negu chilomikronai (1 lentelė) [24,30].

Žmonių LMTL neša 7–10 proc. viso kraujo plazmos cholesterolio ir apie pusę triacilglicerolių kiekio. Vidutinė LMTL koncentracija sveikų žmonių kraujo plazmoje yra 0,8–1,5 g/l, skilimo pusperiodis nuo 2 iki 4 valandų [31]. LMTL gerai išsklaido šviesą, todėl sustiprėjus trigliceridų sintezei kepenyse ir padidėjus LMTL produkcijai kraujo plazma pasidaro balzguna, sukeliamas pastebimas drumstumas [32,33].

Kaip ir chilomikronus, labai mažo tankio lipoproteinus kraujyje veikia fermentas – lipoproteinlipazė. Jos veikiami lipoproteinuose esantys triacilgliceroliai yra hidrolizuojami. Hidrolizės metu susidariusios laisvosios riebalų rūgštys toliau oksiduojamos audiniuose arba su albuminais keliauja į kepenis. Lipoproteinlipazę aktyvina chilomikronuose ir labai mažo tankio lipoproteinuose esantis apolipoproteinas C-II bei heparinas. Dėl to dalelės mažėja, o jų tankis – didėja. Susidaro LMTL likučiai. Dalį jų iš kraujo paima ir toliau metabolizuoja kepenys. Likusi dalis, vykstant apykaitai ir keičiantis sudėtinėms dalims su kitais lipoproteinais, virsta tarpinio tankio lipoproteinais (TTL), kol galiausiai tokiose dalelėse lieka tik cholesterolis ir specifinis apolipoproteinas B-100. Susiformuoja kokybiškai nauja dalelė – mažo tankio lipoproteinas [24,34].

1.1.3. Mažo tankio lipoproteinai

Nedidelė dalis mažo tankio lipoproteinų yra tiesiogiai sintetinama kepenyse. Kita MTL dalis susidaro LMTL lipolizės metu [21,24]. Lipoproteinlipazei hidrolizuojant triacilglicerolius sumažėja LMTL šerdies tūris ir keičiasi lipoproteino sudėtis, t.y. jame mažėja triacilglicerolių ir gausėja cholesterolio esterių. Šių procesų metu (LMTL→TTL→MTL) susidarę mažo tankio lipoproteinai turi visą apolipoproteino B kiekį iš LMTL ir didžiąją dalį cholesterolio esterių [25].

Mažo tankio lipoproteinų šerdinę dalį sudaro cholesterolis ir cholesterolio esteriai (apie 50 proc.) iš išorės apgaubti fosfolipidų (20 proc.) ir apolipoproteinų (25 proc.) sluoksniu. Šie lipoproteinai yra žymiai mažesni už trigliceridais turtingus chilomikronus ir labai mažo tankio lipoproteinus, todėl net ir labai padidėjus jų koncentracijai, nesukelia pastebimo kraujo plazmos drumstumo [24]. Žmogaus kraujo plazmos MTL yra gausiausia lipoproteinų klasė, kurių vidutinė koncentracija kraujo plazmoje yra 3–4 g/l. Įprastai žmogaus organizme MTL dalelės iš LMTL visiškai susiformuoja per 12 valandų, o jų skilimo pusperiodis – 3 paros [35].

Žmogaus organizme MTL perneša cholesterolį ir cholesterolio esterius į periferinių audinių ląsteles ir kepenis [30]. Kadangi MTL dalelės yra mažesnės negu LMTL dalelės ir chilomikronai, jos gali infiltruotis į kraujagyslės sienelės ekstraląstelinę sritį, kur prasideda jų oksidacija. Oksiduotus MTL

fagocituoja makrofagai, susidaro putliosios ląstelės, kurios pažeidžia lygiuosius raumenis, kaupiasi ant kraujagyslių endotelio ir išskiria oksiduotą cholesterolį, kuris sąlygoja aterosklerozinių plokštelių formavimąsi ir aterosklerozės vystymąsi [36]. Todėl šie lipoproteinai dar vadinami aterogeniniais.

1.1.4. Didelio tankio lipoproteinai

Didelio tankio lipoproteinai (DTL) – tai mažiausios ir tankiausios lipoproteinų dalelės, sintetamos kepenyse ir žarnyno enterocituose [37]. Remiantis tankio skirtumais yra išskiriami du pagrindiniai didelio tankio lipoproteinų tipai: disko (DTL₃) ir sferinės (DTL₂) formos dalelės, pastaroji forma dažnesnė. Cirkuliuodami kraujyje DTL₃ keičiasi savo baltymais su kitais lipoproteinais ir atlieka savo svarbiausią funkciją – iš ląstelių membranų paima laisvąjį cholesterolį. Cholesterolio esteriai padidina dalelės šerdies tūrį ir susidaro sferinės formos lipoproteinas DTL₂ [25,38].

Didelio tankio lipoproteinai atlieka pagrindinį vaidmenį perteklinio cholesterolio iš periferinių ląstelių šalinime t.y. dalyvauja atvirkštinėje cholesterolio pernašoje iš ekstrahepatinių audinių į kepenis [39]. Literatūroje nurodoma, kad DTL koncentracija kraujo plazmoje yra atvirkščiai proporcinga lipoproteinlipazės aktyvumui. Didesnė DTL koncentracija lemia didesnį cholesterolio kiekio pašalinimą iš organizmo, todėl šie lipoproteinai kartais vadinami antiaterogeniniais. Vidutinė DTL koncentracija sveiko žmogaus kraujo plazmoje yra 1,3–4,2 g/l, gyvavimo pusperiodis – apie 5 paros [25].

1.2. Kraujo plazmos ir serumo lipeminė interferencija

1.2.1. Lipemijos priežastys

Terminu lipemija, yra apibūdinamas plika akimi matomas kraujo plazmos ar serumo mėginio drumstumas, kurį sąlygoja lipoproteinų dalelių buvimas ir gebėjimas išsklaidyti šviesą. Nors lipidai ir lipoproteinai tiesiogiai cheminėse reakcijose nedalyvauja, tačiau laboratorinėje klinikinėje praktikoje lipemija yra vienas dažniausių interferencinių veiksnių, galinčių įtakoti tyrimų rezultatų tikslumą [7]. Lipeminę interferenciją sukelia riebaus maisto vartojimas, rečiau lipidų infuzija ar sutrikęs lipoproteinų metabolizmas [15,31].

Lipoproteinų, kartu ir lipidų kiekis kraujyje gali padidėti dėl suintensyvėjusios jų sintezės, kai maiste daug cholesterolio, gyvūninių riebalų. Riebiai pavalgius, lipidų pernaša iš žarnyno enterocitų yra didžiausia praėjus 5–6 valandoms po valgio [40]. Dėl didelio chilomikronų kiekio limfa tampa panaši į pieną, o kraujo plazma tampa neskaidri – stebima alimentinė lipemija. Dėl šios priežasties, tiriant kraujo

plazmos ar serumo mėginius privalu, kad asmuo 12–14 valandų iki tyrimo būtų nevalgęs (paprastai tiriama po nakties badavimo).

Hospitalizuotų pacientų kraujo mėginių lipemija gali būti stebima per anksti surinkus mėginį po parenterinės lipidų infuzijos [41,42]. Atliktų tyrimų duomenimis intraveninės lipidų infuzijos sukeltas mėginio drumstumas turi įtakos optiniais metodais tiriamų analizių rezultatams [43,44]. Remiantis Nikolac atliktų tyrimų duomenis, jei įmanoma, kraujo mėginys po lipidų infuzijos turėtų būti imamas praėjus mažiausiai 5–6 valandoms [45].

Neretai lipidų koncentracijos padidėjimas kraujyje yra nustatomas dėl sutrikusio lipoproteinų metabolizmo ar kaip antrinė kitų ligų būklė (pvz. cukrinis diabetas, lėtinis inkstų nepakankamumas, pankreatitas, sisteminė raudonoji vilkligė, skydliaukės ligos, mieloma ir kt.) [11,32]. Esant lipoproteinų apykaitos sutrikimams dažniausiai stebimas padidėjęs vienos ar kelių lipoproteinų klasių kiekis kraujyje, kuris vadinamas hiperlipoproteinemija (hiperlipidemija) [46]. Pagal D. Fredrickson'ą hiperlipoproteinemijos skirstomos į penkis tipus (2 lentelė).

2 lentelė. Hiperlipoproteinemijų klasifikacija [47]

Tipas	Sinonimas	Defektas	Serumo pakitimai	Serumo išvaizda
I	Hiperchilomikronemija	↓MTL, Pakitęs apolipoproteinas C-II	↑Chilomikronai	Viršutinis „grietinėlės“ sluoksnis
IIa	Hipercholesterolemija	↓MTL receptorius	↑MTL	Skaidrus
IIb	Mišrioji hipercholesterolemija	↓MTL receptorius, ↑apolipoproteinas B	↑MTL ir LMTL	Skaidrus ar silpnai drumstas
III	Disbetalipoproteinemija	Apolipoproteino E2 sintezės defektas	↑TTL	Skaidrus ar silpnai drumstas
IV	Hiperprebetalipoproteinemija	↑LMTL produkcija, ↓eliminacija	↑LMTL	Drumstas
V	Endogeninė hipertrigliceridemija	↑LMTL produkcija, ↓lipoproteinlipazė	↑LMTL ir chilomikronai	Viršutinis „grietinėlės“ sluoksnis ir drumsta apačia

1.2.2. Lipemijos intensyvumo nustatymo metodai

Lipemija gali būti nustatoma vizualiai, matuojant lipemijos indeksą arba trigliceridų koncentraciją.

Vizualiai lipemija gali būti nustatyta, kai pacientų kraujo plazmoje trigliceridų koncentracija yra didesnė negu 3,39 mmol/l [31]. Vizualus lipemijos laipsnio nustatymas yra subjektyvus ir

dažniausiai vertinamas pliusais skalėje nuo 1 iki 5 (pvz. +, ++, +++ ir t.t.). Literatūroje taip pat nurodoma, kad vizualiai lipemija gali būti vertinama kaip „silpna“, „vidutinė“ arba „ryški“ [16,48].

Naudojant automatinius analizatorius lipemijos intensyvumas įvertinamas matuojant L-indeksą. L-indeksas nustatomas spektrofotometrinio būdu, tiriamąjį mėginį skiedžiant fiziologiniu tirpalu arba specialiu reagentu. Spektrofotometrinis lipemijos matavimas yra atliekamas 660–800 nm bangų intervale. L-indeksas gali būti matuojamas pusiau kiekybiniu ar kokybiniu būdu. Išmatuotas lipemijos laipsnis gali varijuoti tarp L^- (norma) iki L^{+++++} , priklausomai nuo laboratorijoje naudojamos metodikos ir analitinės platformos [16,49].

Lipemijos laipsnis gali būti nustatomas matuojant tiriamojo mėginio trigliceridų koncentraciją. Tačiau nustatyta trigliceridų koncentracija mėginyje tik apytiksliai leidžia įvertinti mėginio lipemijos laipsnį, dėl skirtingo trigliceridų kiekio atskiruose lipoproteinų poklasiuose, kur trigliceridų kiekis varijuoja maždaug nuo 50 proc. labai mažo tankio lipoproteinuose iki 85–90 proc. chilomikronuose. Twomey ir kolegų atliktų tyrimų duomenimis reikšminga koreliacija tarp mėginio trigliceridų koncentracijos ir lipemijos laipsnio nenustatyta [50].

1.2.3. Lipemijos reikšmė laboratorinių tyrimų rezultatams

Lipemija dažniausiai įtakoja optiniais metodais atliekamų laboratorinių tyrimų rezultatus. Dėl padidėjusios absorbcijos ir šviesos išsklaidymo lipeminė interferencija reikšmingai paveikia fotometrinius, spektrofotometrinius, galinio taško, nefelometrinius ir turbidimetrinius metodus atliekamų tyrimų rezultatus, turi įtakos krešėjimo tyrimų rezultatams [13,14]. Žinoma, kad lipoproteinų dalelės mėginyje gali išsklaidyti ir absorbuoti šviesą. Absorbuotas šviesos kiekis yra atvirkščiai proporcingas bangos ilgiui ir mažėja nuo 300 iki 700 nm, todėl metodai, kurie paremti trumpesnio bangos ilgio matavimu yra labiau įtakojami lipeminės interferencijos [51].

Lipeminės interferencijos reikšmingumas spektrofotometriniais metodais priklauso nuo reakcijos bangos ilgio, šviesos absorbcijos matavimo padidėjimo arba sumažėjimo bei lipemijos pašalinimo metodo [32]. Tai patvirtina ir Nora Nikolac bei jos kolegų atliktų tyrimų duomenys. Naudojant trijų skirtingų gamintojų reagentus ir analitines platformas (Cobas[®] 6000, Roche Diagnostics; Beckman Coulter AU 680 ir Dimension Vista 1500, Siemens Healthcare Diagnostics) buvo nustatytas reikšmingas bilirubino koncentracijų skirtumas lipeminiame kraujo serume. Dimension Vista 1500 sistema (Diazo reakcija) nustatytos reikšmingai padidėjusios bilirubino koncentracijos, Roche reagentu (DPD – dichlorfenil tetrafluorboratas) reikšmingai sumažėjusios bilirubino koncentracijos tirtuose lipeminiuose kraujo serumo mėginiuose. Beckman Coulter metodu (DPD – dichlorfenil tetrafluorboratas) reikšminga lipeminė interferencija bilirubino koncentracijai nenustatyta [45]. Kitų

mokslinių tyrimų metu nustatyta, kad lipeminės interferencijos reikšmingumas tiriamų biocheminių analizių rezultatams priklauso ne tik nuo trigliceridų koncentracijos dydžio kraujo serume, naudojamos analitinės sistemos, bet ir nuo naudojamo reagento rūšies [52].

Agarwal ir kolegų mokslinių tyrimų metu buvo ištirta lipemijos įtaka ŽIV-1/2, testosterono, progesterono, ceruloplazmino, haptoglobino, komplementų C3 ir C4, imunoglobulinų A, G, M (IgA, IgG, IgM), alfafetoproteino, žmogaus chorioninio gonadotropino (hCG), kreatinkinazės MB izofermento (CK-MB), tireotropinio hormono (TTH), vitamino D, albumino, feritino ir gliukozės tyrimų rezultatams. Kiekviena analizė buvo išmatuota prieš ir po mėginio apruošimo specialiu reagentu, skirtu lipemijai pašalinti. Lipemijos laipsnis nustatytas naudojant lyginamąjį pusiau kokybinį vizualinį metodą. Tyrimų metu buvo nustatytas reikšmingas IgG ir IgA padidėjimas, esant $TG \geq 11,29$ mmol/l, IgM reikšmingai padidėjo, kai $TG \geq 22,58$ mmol/l. Esant $TG > 4,52$ mmol/l buvo nustatytos reikšmingai didesnės ceruloplazmino ir haptoglobino koncentracijos kraujo serume. Komplementai C3 ir C4, vitaminas D bei feritinas reikšmingai sumažėjo esant $TG \geq 11,29$ mmol/l. Reikšminga lipeminė interferencija nustatyta analizėms, nustatomoms nefelometriniais ir turbidimetriniais metodais [48].

Gerard Steen ir kolegų mokslinių tyrimų metu buvo įvertinta hemoglobino, bilirubino ir lipidų įtaka 24-ių imunologinių analizių rezultatams: α 1-fetoproteinui, CA-125, CA15-3, karcinoembrioniniam antigenui (CEA), kortizoliui, feritinui, folio rūgščiai, 5-ių maisto alergenų paletai, įkvepiamiesiems alergenams, laisvam tiroksinui (LT4), folikulus stimuliuojančiam hormonui (FSH), hCG, liuteinizuojantis hormonas (LH), natriuretiniam peptidui (NT-proBNP), estradioliui, progesteronui, prolaktinui, prostatos specifiniam antigenui (PAS), trijodtironinui (T3), testosteronui, bendram imunoglobulinui E, troponinui I, TTH ir vitaminui B₁₂. Analizių koncentracijos matavimai atlikti Siemens Immulite 2500 sistema. Hemolizės, ikteriškumo ir lipemijos indeksai išmatuoti Synchron DxC 800 analizatoriumi. Buvo nustatytas reikšmingas feritino, folio rūgšties ir FSH koncentracijos padidėjimas esant kraujo serumo hemolizei. Padidėjusi bilirubino koncentracija kraujo serume reikšmingai padidino testosterono ir estradiolio koncentraciją, įtakoją reikšmingai sumažėjusias folio rūgšties bei LH reikšmes. Esant lipeminei interferencijai buvo nustatyta reikšmingai sumažėjusi progesterono ir testosterono koncentracija kraujo serume [53].

Lipemija įtakuoja ir elektrolitų koncentracijos tyrimus. Dažniausiai elektrolitų koncentracija kraujo serume nustatoma trimis pagrindiniais metodais: tiesioginiu potenciometriniais, netiesioginiu potenciometriniais ir liepsnos fotometrijos metodais. Netiesioginis potenciometrinis ir liepsnos fotometrijos metodai apima ir tiriamojo mėginio skiedimą, todėl yra labiau paveikiami lipeminės interferencijos [54]. Tai įrodo ir neseniai Sen su kolegomis atlikti lipeminės interferencijos tyrimai. Buvo tirti 105 kraujo serumo mėginiai, kuriuose lipemija dirbtinai sukurta panaudojant intraveninių lipidų emulsiją. Kalio ir natrio koncentracija išmatuota tiesioginiu ir netiesioginiu potenciometriniais metodais. Reikšminga lipeminė interferencija tirtų elektrolitų rezultatams nustatyta, kai trigliceridų koncentracija

kraujo serume viršijo 7,34 mmol/l. Nustatytas reikšmingas elektrolitų koncentracijos sumažėjimas. Palyginamoji rezultatų analizė tarp abiejų metodų parodė, kad esant didesnei negu 17,49 mmol/l trigliceridų koncentracijai, buvo stebimas reikšmingai didesnis natrio koncentracijos sumažėjimas lipeminiame serume, matavimus atliekant netiesioginiu potenciometrinio metodu [55].

Mokslinėje literatūroje aprašyta lipeminės interferencijos įtaka krešėjimo tyrimų rezultatams. Padidėjęs krešėjimo faktoriaus VII (FVIIc) aktyvumas kraujo plazmoje stebimas po labai riebaus maisto suvartojimo, labiausiai dėl padidėjusios aktyvuoto FVII (FVIIa) koncentracijos. Taip pat nustatyta, kad labai riebus maistas turi poveikį trombocitų funkcijai ir gali sumažinti kai kurių krešėjimo faktorių aktyvumą (pvz. FII, FIX, FX, FVII, FVIIa, FXIIa) [56]. Woolley ir kolegų mokslinės studijos metu buvo nustatytas reikšmingas lipemijos poveikis protrombino (PT) ir dalinio aktyvinto tromboplastino laikui (ADTL). Kiekvienos tiriamosios grupės plazmos mėginiai buvo padalinti į 4 dalis po 2 ml. Į kiekvieną iš keturių mėginių įdėta egzogeninio trigliceridų standartinio tirpalo (Lipofundin S 20 proc., B. Braun SpA, Milan, Italy) (0 mmol/l, 11,1 mmol/l, 27,75 mmol/l ir 55,5 mmol/l atitinkamai). Tyrimų metu buvo nustatytas statistiškai reikšmingai sumažėjęs PT ir ADTL laikas, esant 27,75 mmol/l ir 55,5 mmol/l trigliceridų koncentracijai kraujo plazmoje. Reikšminga lipemijos įtaka fibrinogeno tyrimų rezultatams nebuvo nustatyta [57].

1.2.4. Lipemijos pašalinimo metodai

Daugeliu atveju lipemija, skirtingai nei kitos analitinės interferencijos, gali būti pašalinta. Lipemijai šalinti naudojami įvairūs metodai: centrifugavimas, reagentai surišantys lipoproteinus, mėginio skiedimas ir kt. Metodai, kuriais pašalinama lipemija negali būti naudojami tirti analitėms, kurios pasiskirsčiusios lipidų sluoksnyje [58].

1.2.4.1. Centrifugavimas

Centrifugavimas naudojant ultracentrifugas yra vienas pagrindinių ir efektyviausių metodų rekomenduojamų mėginio lipemijai pašalinti, suteikiančių galimybę atlikti daugelio analizių matavimus [11,59]. Ultracentrifugų jėga siekia 100000–200000×g, rekomenduojamas mėginio centrifugavimo laikas apie 15 min. [13]. Kaip pigesnė alternatyva gali būti naudojamos didelės spartos centrifugos, kurių apsisukimo jėga siekia 10000×g. Dimeski ir Jones atliktų studijų duomenimis didelės spartos centrifugos leidžia efektyviai pašalinti chilomikronų ir LMTL sukeltą mėginio lipeminę interferenciją. Po mėginio

centrifugavimo didelės spartos centrifuga susiformavęs lipidų sluoksnis pašalinamas, analitiniai matavimai atliekami iš gauto supernatanto [6].

1.2.4.2. Skiedimas

Lipeminei interferencijai sumažinti tiriamasis mėginys gali būti skiedžiamas NaCl fiziologiniu tirpalu arba dejonizuotu vandeniu, santykiu 1:1, 1:2, 1:3 ir t.t. Tyrimui geriausia naudoti mažiausią skiedimą, kuris sumažina drumstumą, kad nebūtų viršyta tiriamosios analizės matavimo riba pagal naudojamus metodus [58]. Po skiedimo atliekama mėginio analizė, tyrimų rezultatai perskaičiuojami atsižvelgiant į praskiedimo koeficientą.

1.2.4.3. Ekstrakcija

Žmogaus kraujo plazmos lipidai gali būti pašalinti naudojant polinius tirpiklius ar detergentus, atliekant precipitaciją polianijonais, ciklodekstrinu arba polietilenglikoliu. Šiuo metu laboratorijose plačiai naudojamas komercinis produktas LipoClear (StatSpin[®], Norwood, MA, JAV), sukeliantis lipidų precipitaciją lipeminiame kraujo serumo mėginyje. LipoClear reagentas sumaišomas su lipeminiu paciento serumu santykiu 1:5, centrifuguojama $2000\times g$, 20 min. Po centrifugavimo sujungtos lipidų dalelės nusėda mėgintuvėlio dugne, matavimai atliekami iš skaidraus supernatanto. Šis lipidų pašalinimo būdas yra greitas, efektyvus, nereikalaujantis specialios įrangos, leidžiantis atlikti visų parametų matavimus skaidriame mėginyje [60].

2. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

2.1. Tiriamoji medžiaga

Tyrimas atliktas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) ligoninės Kauno klinikų Laboratorinės medicinos klinikoje, Klinikinės chemijos laboratorijoje, gavus LSMU Bioetikos centro leidimą (Leidimo Nr. BEC–LMB(M)–215).

Į tyrimą buvo įtraukti 127 vizualiai atrinkti lipeminiai kraujo serumo ar plazmos mėginiai. Tiriamųjų grupę sudarė 39 moterys (30,71 proc.) ir 88 vyrai (69,29 proc.). Mėginių lipemiškumo laipsnis buvo nuo silpnai drumsto iki balkšvo („grietinėlės“ konsistencijos). Tiriamųjų kraujo serumo ir plazmos mėginių trigliceridų koncentracija buvo 2,08–93,35 mmol/l. Tyrimai atlikti pagal standartines tyrimų metodikas, naudojamas laboratorijoje.

2.2. Kraujo serumo ar plazmos ėminiai

Biocheminiams tyrimams veninis kraujas buvo imamas į vakuuminius mėgintuvėlius su krešėjimo sistemos aktyvatoriais ir ličio heparinu. Kraujo ėminiai į laboratoriją pristatyti vertikaliajoje padėtyje, 18–25°C temperatūroje per 1 val. nuo kraujo paėmimo.

2.3. Kraujo serumo ar plazmos mėginių ruošimas ir laikymas

Kraujo serumas ar plazma nuo ląstelių atskirti centrifuguojant $2000\times g$, 20 min. Vizualiai atrinkti tiriamieji lipeminiai pacientų kraujo serumo ar plazmos mėginiai iki tyrimo laikyti 2–8°C temperatūroje ne ilgiau kaip 48 val. Prieš tyrimą mėginiai sušildyti iki kambario temperatūros.

2.4. Tyrimo metodai

2.4.1. Tiriamosios analizės ir jų tyrimo metodai

Visiems tiriamiesiems mėginiams buvo matuojama trigliceridų koncentracija. Mėginiai, kuriuose trigliceridų koncentracija viršijo matavimo ribas ($>11,97$ mmol/l) buvo skiedžiami 0,9 proc. NaCl tirpalu santykiu 1:1, 1:3, 1:5, 1:10, priklausomai nuo trigliceridų koncentracijos dydžio tiriamajame mėginyje. Trigliceridų tyrimo rezultatas buvo suskaičiuotas įvedus praskiedimo koeficientą.

Vizualiai atrinktų lipeminių mėginių kraujo serumas ar plazma Pastero pipete buvo atskirti į vienkartinius plastikinius mėgintuvėlius. Tiriamųjų analičių koncentracija buvo nustatyta klinikinės chemijos automatine sistema Synchron UniCell DxC 800 (Beckman Coulter, JAV), naudojant elektrocheminius (jono-atrankiuosius ir savitojo fermentinio elektros laidžio), spektrofotometrinius bei turbidimetrinius metodus (3 lentelė).

Jono-atrankiniais metodais buvo išmatuota kalio ir natrio koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu. Kalio ir natrio jonų koncentracija potencio-metrinio titravimo metodu nustatyta matuojant kalio arba natrio jono atrankinio elektrodo potencialą prieš natrio lyginamąjį elektrodą. Išmatuotas potencialas yra proporcingas tiriamos medžiagos koncentracijos pokyčiui.

Šlapalo koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose buvo nustatyta savitojo fermentinio elektros laidžio metodu. 10 µl tiriamojo mėginio buvo suleidžiama į reakcijų indelį su ureazės tirpalu. Reakcijos metu šlapalas konvertuojamas į amonio jonus ir bikarbonatą. Tirpalo laidžio padidėjimas per numatytą trukmę buvo tiesiogiai proporcingas šlapalo, esančio reakcijų indelyje, koncentracijai.

Spektrofotometriniais metodais, matuojant tam tikro (arba kintamo) bangos ilgio šviesos intensyvumą buvo nustatyta kreatinino, bendro baltymo, albumino, bendro bilirubino, alaninaminotransferazės (ALT), aspartataminotransferazės (AST), γ -gliutamilttransferazės (GGT) ir magnio (Mg) koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose prieš ir po mėginių apruošimo lipoproteinus surišančiu reagentu. Klinikinės chemijos automatine sistema buvo matuojami bangos ilgio absorbcijos pokyčiai, kurie yra tiesiogiai proporcingi tiriamosios medžiagos koncentracijai mėginyje.

C – reaktyvaus baltymo (CRB) bei imunoglobulinų A, G ir M (IgA, IgG, IgM) koncentracija tiriamuosiuose kraujo plazmos ar serumo mėginiuose, prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu, buvo nustatyta naudojant turbidimetrinius metodus. Reakcijos metu specialiais antikūnais dengtos dalelės prisijungia prie specifinių baltymų tiriamajame mėginyje ir sudaro netirpius agregatus (antikūno-antigeno kompleksus), sukeliančius drumstumą. Atliekant turbidimetrinę analizę buvo matuojamas šviesos srauto, praėjusio per tirpalą, kuriame yra makrodalelių, stipris.

3 lentelė. Tirtų analičių nustatymo metodai ir tyrimo principas

Analitė		Tyrimo principas
Elektrocheminiai tyrimo metodai	Kalis, mmol/l	Matuojami elektrodo potencialo pokyčiai. Potencialo pokyčiai yra lyginami su referentiniu elektrodu. Pritaikius Nernsto lygtį apskaičiuojama kalio koncentracija.
	Natris, mmol/l	Matuojami elektrodo potencialo pokyčiai. Potencialo pokyčiai yra lyginami su referentiniu elektrodu. Pritaikius Nernsto lygtį apskaičiuojama natrio koncentracija.

	Šlapalas, mmol/l	Reakcijos metu tirpalo laidžio padidėjimas per nustatytą trukmę yra tiesiogiai proporcingas šlapalo koncentracijai.
Spektrofotometriniai tyrimo metodai	Kreatininas, $\mu\text{mol/l}$	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 520 nm bangos ilgiui. Absorbcijos greitis yra tiesiogiai proporcingas kreatinino koncentracijai tiriamajame mėginyje.
	Bendras baltymas, g/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 545 nm bangos ilgiui. Nustatytoji chelato susidarymo greičio reikšmė yra tiesiogiai proporcinga bendro baltymo koncentracijai mėginyje.
	Albuminas, g/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 600 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi albumino koncentracijai mėginyje.
	Bendras bilirubinas, $\mu\text{mol/l}$	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 520 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi TBIL koncentracijai mėginyje.
	Alaninaminotransferazė, U/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 340 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi ALT koncentracijai mėginyje.
	Aspartataminotransferazė, U/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 340 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi AST koncentracijai mėginyje.
	γ -gliutamilttransferazė, U/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 410 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi GGT koncentracijai mėginyje.
	Magnis, mmol/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 520 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi Mg koncentracijai mėginyje.
Turbidimetriniai tyrimo metodai	C-reaktyvus baltymas, mg/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 600 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra proporcingi CRB koncentracijai mėginyje.
	Imunoglobulinas A, g/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 340 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra proporcingi IgA koncentracijai mėginyje.
	Imunoglobulinas G, g/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 340 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra proporcingi IgG koncentracijai mėginyje.

	Imunoglobulinas M, g/l	Matuojami šviesos absorbcijos pokyčiai esant 340 nm bangos ilgiui. Absorbcijos pokyčiai yra proporcingi IgM koncentracijai mėginyje.
--	------------------------	--

2.4.2. Lipeminės interferencijos tyrimo principas ir darbo eiga

Buvo atliekamas lipeminių mėginių apruošimas lipoproteinus surišančiu reagentu LipoClear (StatSpin, Iris, JAV). LipoClear reagentas po 150 µl automatine 20–200 µl Eppendorf kintamo tūrio pipete buvo išpilstytas į skaidrius mikrocentrifuginius 1,5 ml mėgintuvėlius. Į kiekvieną mikrocentrifuginį mėgintuvėlį su LipoClear reagentu automatine 100–1000 µl Eppendorf kintamo tūrio pipete buvo išpilstyta po 750 µl tiriamojo lipeminio kraujo serumo ar plazmos mėginio. Gerai sumaišytas mišinys buvo inkubuotas 5 minutes kambario temperatūroje. Po inkubacijos paruoštas mišinys centrifuguotas $2000\times g$, 20 min. Po centrifugavimo gautas skaidrus supernatantas (1 pav.). Iš supernatanto atlikta pakartotinė tiriamųjų analizių biocheminė analizė, naudojant klinikinės chemijos automatinę sistemą Synchron UniCell Dx C 800 (Beckman Coulter, JAV). Pagal gamintojo metodiką, tyrimų rezultatai gauti po mėginio apruošimo LipoClear reagentu padauginėti iš 1,2 koeficiento.



1 pav. A – mėginys prieš apruošimą LipoClear reagentu; B – mėginys po apruošimo LipoClear reagentu

2.5. Statistinė duomenų analizė

Duomenys statistiškai įvertinti naudojantis „IBM SPSS Statistics 23.0“ programine įranga. Kolmogorov–Smirnov testu nustatyta ar kiekybinių dydžių skirstinys normalusis. Dviejų priklausomų

imčių palyginimui, kai kintamieji turi normalųjį skirstinį, naudotas porinis *Student'o t* – testas, kintamiesiems, neturintiems normaliojo skirstinio – *Wilcoxon'o* testas. Statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių apibrėžtas, jei reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$.

Lipemijos poveikio stiprumas (r) apskaičiuotas pagal *Cohen'o* kriterijų: $r=0,1$ – silpnas; $r=0,3$ – vidutinis; $r=0,5$ – stiprus.

$$r = \frac{Z}{\sqrt{N}},$$

kur: Z – standartinis įvertis;

N – imtis.

3. REZULTATAI

Buvo ištirti vizualiai atrinkti 127 lipeminiai pacientų kraujo serumo ar plazmos mėginiai. Trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose buvo nuo 2,08 mmol/l iki 93,35 mmol/l, vidutinė trigliceridų koncentracija buvo $10,18 \pm 11,47$ mmol/l.

Atlikus pasirinktų tiriamųjų biocheminių analizių matavimus elektrocheminiais (jono-atrankiniais ir savitojo fermentinio elektros laidžio), spektrofotometriniais bei turbidimetriniais metodais buvo nustatyta, kad visų tirtų analizių koncentracijos pacientų kraujo serume ar plazmoje patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p < 0,001$).

Lipemijos poveikio stiprumas tirtų analizių rezultatams, remiantis *Cohen* 'o kriterijumi, buvo nuo vidutinio ($r=0,31$) iki stipraus ($r=0,61$). Nustatyta, kad lipemija patikimai reikšmingai didino visų spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių, išskyrus kreatinimą ir albuminą, rezultatus bei patikimai reikšmingai mažino visų elektrocheminiais metodais tirtų analizių rezultatus. Tyrimo rezultatai pateikti 4 lentelėje.

4 lentelė. Tirtų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu tiriant elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais (N=127)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,60 (1)	4,60 (1)	<0,001*	0,31
Na (mmol/l)	137,00 (4)	142,00 (5)	<0,001*	0,56
Šlapalas (mmol/l)	5,80 (4)	5,80 (4,2)	<0,001*	0,40
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas ($\mu\text{mol/l}$)	87,00 (52)	96,00 (66)	<0,001*	0,54
Bendras baltymas (g/l)	69,00 (9)	66,00 (9)	<0,001*	0,37
Albuminas (g/l)	41,00 (5)	43,00 (5)	<0,001*	0,59
Bendras bilirubinas ($\mu\text{mol/l}$)	7,40 (7,1)	5,40 (6,9)	<0,001*	0,43
ALT (U/l)	31,00 (26)	29,00 (30)	<0,001*	0,31
AST (U/l)	28,00 (27)	25,00 (23)	<0,001*	0,43
GGT (U/L)	17,00 (56)	6,00 (40)	<0,001*	0,53
Mg (mmol/l)	0,85 (0,13)	0,79 (0,11)	<0,001*	0,54
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	1,72 (4,26)	0,50 (0)	<0,001*	0,50
IgA (g/l)	2,12 (1,61)	2,00 (1,39)	<0,001*	0,55
IgM (g/l)	1,00 (0,7)	0,30 (0,2)	<0,001*	0,61
IgG (g/l)	$11,02 \pm 3,49$	$8,53 \pm 2,64$	<0,001**	0,61

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

**Wilcoxon* 'o testas, **porinis *Student* 'o *t* testas.

Vertinant lipemijos įtaką įvairiais metodais atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $\leq 2,5$ mmol/l, nustatytas patikimai reikšmingas keletos spektrofotometriniais metodais atliekamų tyrimų, bendro baltymo ($p=0,046$) ir alaninaminotransferazės ($p=0,027$) bei daugumos turbidimetriniu metodu atliekamų tyrimų, IgA, IgM ir IgG ($p=0,018$), koncentracijų skirtumas prieš ir po mėginio apnuošimo lipoproteinus surišančiu reagentu.

Remiantis *Cohen*’o kriterijumi nustatyta, kad nežymus trigliceridų koncentracijos padidėjimas paciento kraujo serume ar plazmoje stipriai didino turbidimetriniais metodais tirtų imunoglobulinų ($r=0,63$) ir spektrofotometriniais metodais tirtų bendro baltymo ($r=0,53$) bei alaninaminotransferazės ($r=0,59$) tyrimų rezultatus. Tyrimo rezultatai pateikti 5 lentelėje.

5 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $\leq 2,5$ mmol/l (N=7)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,60 (0,8)	4,60 (1)	0,465*	0,19
Na (mmol/l)	138,00 (4)	140,00 (6)	0,343*	0,25
Šlapalas (mmol/l)	5,40 (1,8)	5,30 (2,3)	0,443*	0,21
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	76,60 (25)	78,00 (11)	0,596*	0,14
Bendras baltymas (g/l)	69,00 (5)	62,00 (6)	0,046*	0,53
Albuminas (g/l)	42,00 (3)	43,00 (3)	0,070*	0,48
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	5,20 (3,5)	2,30 (3,1)	0,063*	0,49
ALT (U/l)	21,00 (7)	18,00 (11)	0,027*	0,59
AST (U/l)	26,00 (12)	23,00 (5)	0,115*	0,42
GGT (U/L)	1,00 (1)	1,00 (1)	0,180*	0,36
Mg (mmol/l)	0,82 (0,06)	0,78 (0,07)	0,172*	0,36
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	0,50 (0,8)	0,50 (0,8)	0,180*	0,36
IgA (g/l)	1,51 (1,69)	1,45 (1,56)	0,018*	0,63
IgM (g/l)	1,06 (0,82)	0,24 (0,19)	0,018*	0,63
IgG (g/l)	11,39 $\pm$ 2,89	8,53 $\pm$ 2,84	0,018**	0,63

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

*Wilcoxon’o testas, **porinis *Stjudent*’o *t* testas.

Vertinant lipemijos įtaką įvairiais metodais atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $> 2,5$ mmol/l, nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių

koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p<0,001$).

Remiantis *Cohen'o* kriterijumi, lipemija vidutiniškai įtakojo kalio ir šlapalo koncentracijų sumažėjimą bei bendro baltymo, bendro bilirubino, alaninaminotransferazės ir aspartataminotransferazės koncentracijų padidėjimą ($r=0,30-0,46$), stipriai mažino natrio, kreatinino, albumino bei didino γ -gliutamilttransferazės, magnio, C – reaktyvaus baltymo, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus ($r=0,51-0,61$). Tyrimo rezultatai pateikti 6 lentelėje.

6 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $>2,5$ mmol/l ($N=120$)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,60 (1)	4,65 (1)	<0,001*	0,35
Na (mmol/l)	137,00 (4)	142,00 (5)	<0,001*	0,58
Šlapalas (mmol/l)	5,80 (4,2)	5,80 (4,3)	<0,001*	0,41
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	90,00 (67)	98,50 (77)	<0,001*	0,55
Bendras baltymas (g/l)	68,50 (10)	66,00 (9)	<0,001*	0,36
Albuminas (g/l)	41,00 (5)	43,00 (6)	<0,001*	0,60
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	7,70 (7)	5,50 (6,9)	<0,001*	0,46
ALT (U/l)	32,50 (28)	30,00 (30)	<0,001*	0,30
AST (U/l)	29,00 (28)	27,00 (25)	<0,001*	0,43
GGT (U/L)	18,00 (58)	6,00 (44)	<0,001*	0,53
Mg (mmol/l)	0,86 (0,13)	0,79 (0,11)	<0,001*	0,55
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	1,87 (5,36)	0,50 (0)	<0,001*	0,51
IgA (g/l)	2,13 (1,62)	2,03 (1,39)	<0,001*	0,55
IgM (g/l)	1,00 (0,73)	0,30 (0,20)	<0,001*	0,61
IgG (g/l)	10,10 $\pm$ 3,53	8,53 $\pm$ 2,64	<0,001**	0,61

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilų.

**Wilcoxon'o* testas, **porinis *Student'o t* testas.

Atlikus tiriamųjų biocheminių analizių matavimus jono-atrankiniais, savitojo fermentinio elektros laidžio, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo plazmos ar serumo mėginiuose buvo $\leq 3,39$ mmol/l, nustatyta, kad visų tirtų analizių, išskyrus kalio ($p=0,903$) ir šlapalo ($p=0,104$), koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p<0,05$).

Remiantis *Cohen* 'o kriterijumi lipemijos poveikio stiprumas tiriamų analizių rezultatams buvo nuo vidutinio ($r=0,34$) iki stipraus ($r=0,62$), išskyrus kalio ($r=0,02$) ir šlapalo ($r=0,26$) rezultatus. Nustatyta, kad lipemija vidutiniškai įtakojo natrio ir kreatinino koncentracijų sumažėjimą bei bendro bilirubino, aspartataminotransferazės, γ -gliutamiltansferazės, magnio ir C – reaktyvaus baltymo koncentracijų padidėjimą, stipriai mažino albumino bei didino bendro baltymo, alaninaminotransferazės, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus. Tyrimo rezultatai pateikti 7 lentelėje.

Vertinant lipemijos įtaką biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $>3,39$ mmol/l ($N=107$), nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p<0,001$).

7 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $\leq 3,39$ mmol/l ($N=20$)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	<i>p</i>	Poveikio stiprumas <i>r</i>
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,50 (0,7)	4,60 (0,8)	0,903*	0,02
Na (mmol/l)	137,00 (2)	140,00 (5)	0,019*	0,37
Šlapalas (mmol/l)	4,35 (3,2)	4,55 (3,0)	0,104*	0,26
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	79,00 (46)	80,50 (29)	0,032*	0,34
Bendras baltymas (g/l)	67,00 (7)	62,00 (8)	<0,001*	0,54
Albuminas (g/l)	40,50 (5)	42,00 (4)	<0,001*	0,55
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	5,20 (4,1)	2,75 (3,9)	0,003*	0,48
ALT (U/l)	21,00 (14)	18,00 (12)	<0,001*	0,57
AST (U/l)	25,50 (19)	24,00 (16)	0,027*	0,35
GGT (U/L)	1,00 (8)	1,00 (0,0)	0,008*	0,42
Mg (mmol/l)	0,83 (0,11)	0,78 (0,1)	0,011*	0,40
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	1,01 (2,23)	0,50 (0,0)	0,003*	0,46
IgA (g/l)	2,01 (1,73)	1,68 (1,59)	<0,001*	0,61
IgM (g/l)	1,09 (0,67)	0,24 (0,31)	<0,001*	0,62
IgG (g/l)	11,95 $\pm$ 4,10	9,18 $\pm$ 3,79	<0,001**	0,62

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

*Wilcoxon 'o testas, **porinis *Student* 'o *t* testas.

Vertinant lipemijos įtaką įvairiais metodais atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $\leq 4,0$ mmol/l, nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų

biocheminių analizių, išskyrus kalį ($p=0,600$), koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu ($p<0,05$).

Remiantis *Cohen'o* kriterijumi, lipemija vidutiniškai įtakojo natrio, šlapalo, kreatinino ir albumino koncentracijų sumažėjimą bei bendro bilirubino, aspartataminotransferazės, γ -gliutamiltansferazės, magnio ir C – reaktyvaus baltymo koncentracijų padidėjimą ($r=0,30-0,47$), stipriai didino bendro baltymo, alaninaminotransferazės, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus ($r=0,52-0,62$). Tyrimo rezultatai pateikti 8 lentelėje.

Atlikus tiriamųjų biocheminių analizių matavimus, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo plazmos ar serumo mėginiuose buvo $>4,0$ mmol/l ($N=101$), nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu ($p<0,001$).

8 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apruošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $\leq 4,0$ mmol/l ($N=26$)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,50 (0,7)	4,60 (0,8)	0,600*	0,07
Na (mmol/l)	137,00 (3)	140,00 (6)	0,002*	0,43
Šlapalas (mmol/l)	5,40 (5,1)	5,40 (5,1)	0,032*	0,30
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	81,00 (46)	83,50 (42)	0,003*	0,42
Bendras baltymas (g/l)	68,00 (8)	62,00 (8)	<0,001*	0,52
Albuminas (g/l)	40,00 (5)	42,00 (5)	<0,001*	0,46
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	5,20 (4,6)	2,25 (4,7)	<0,001*	0,47
ALT (U/l)	21,00 (13)	18,00 (13)	<0,001*	0,56
AST (U/l)	26,50 (21)	24,00 (19)	0,006*	0,38
GGT (U/L)	1,50 (12)	1,00 (3)	<0,001*	0,44
Mg (mmol/l)	0,83 (0,12)	0,78 (0,10)	0,002*	0,43
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	0,75 (2,34)	0,50 (0,0)	<0,001*	0,44
IgA (g/l)	2,13 (1,90)	2,01 (1,72)	<0,001*	0,56
IgM (g/l)	1,06 (0,65)	0,24 (0,19)	<0,001*	0,61
IgG (g/l)	12,18 $\pm$ 5,01	9,24 $\pm$ 3,99	<0,001*	0,62

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

*Wilcoxon 'o testas, **porinis *Stjudent'o t* testas.

Vertinant lipemijos įtaką įvairiais metodais atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $\leq 5,0$ mmol/l,

nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių, išskyrus kalio ($p=0,128$), koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p<0,05$).

Remiantis *Cohen'o* kriterijumi, lipemija vidutiniškai įtakojo natrio, šlapalo ir kreatinino koncentracijų sumažėjimą bei bendro bilirubino, aspartataminotransferazės, γ -gliutamilttransferazės, magnio ir C – reaktyvaus baltymo koncentracijų padidėjimą ($r=0,30-0,48$), stipriai mažino albumino bei didino bendro baltymo, alaninaminotransferazės, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus ($r=0,50-0,62$). Tyrimo rezultatai pateikti 9 lentelėje.

Atlikus tiriamųjų biocheminių analizių matavimus, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo plazmos ar serumo mėginiuose buvo $>5,0$ mmol/l ($N=88$), nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p<0,001$).

9 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $\leq 5,0$ mmol/l ($N=39$)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,50 (0,50)	4,60 (0,70)	0,128*	0,17
Na (mmol/l)	138,00 (3)	142,00 (5)	<0,001*	0,46
Šlapalas (mmol/l)	5,50 (4,3)	5,50 (4,3)	0,007*	0,30
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	81,00 (42)	84,00 (41)	<0,001*	0,46
Bendras baltymas (g/l)	67,00 (9)	62,00 (9)	<0,001*	0,50
Albuminas (g/l)	40,00 (6)	42,00 (6)	<0,001*	0,51
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	5,00 (4,8)	2,30 (6,4)	<0,001*	0,38
ALT (U/l)	24,00 (16)	22,00 (17)	<0,001*	0,50
AST (U/l)	26,00 (22)	23,00 (21)	<0,001*	0,37
GGT (U/L)	5,00 (34)	1,00 (22)	<0,001*	0,48
Mg (mmol/l)	0,82 (0,08)	0,78 (0,10)	<0,001*	0,45
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	1,02 (2,45)	0,50 (0,00)	<0,001*	0,45
IgA (g/l)	2,05 (1,56)	1,92 (1,29)	<0,001*	0,55
IgM (g/l)	1,02 (0,65)	0,24 (0,20)	<0,001*	0,61
IgG (g/l)	11,33 $\pm$ 4,56	8,90 $\pm$ 3,60	<0,001*	0,62

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

*Wilcoxon 'o testas, **porinis *Stjudent'o* t testas.

Vertinant lipemijos įtaką įvairiais metodais atliekamų biocheminių tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo $\leq 6,0$ mmol/l, nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p < 0,05$).

Remiantis *Cohen'o* kriterijumi, lipemija silpnai įtakojo kalio koncentracijos sumažėjimą ($r=0,27$), vidutiniškai įtakojo šlapalo ir kreatinino koncentracijų sumažėjimą bei bendro bilirubino, alaninaminotransferazės, aspartataminotransferazės, γ -gliutamilttransferazės, magnio ir C – reaktyvaus baltymo koncentracijų padidėjimą ($r=0,38-0,49$), stipriai mažino natrio ir albumino bei didino bendro baltymo, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus ($r=0,50-0,62$). Tyrimo rezultatai pateikti 10 lentelėje.

Atlikus tiriamųjų biocheminių analizių matavimus, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose kraujo plazmos ar serumo mėginiuose buvo $> 6,0$ mmol/l ($N=71$), nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu ($p < 0,05$).

10 lentelė. Tiriamų analizių koncentracija prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu, kai trigliceridų koncentracija pacientų kraujo serume ar plazmoje buvo $\leq 6,0$ mmol/l ($N=56$)

Analitė	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) prieš lipidų pašalinimą	$\bar{X} \pm SN$ ar Md(IQR) po lipidų pašalinimo	p	Poveikio stiprumas r
Elektrocheminiai tyrimo metodai				
K (mmol/l)	4,50 (0,9)	4,60 (0,9)	0,004*	0,27
Na (mmol/l)	138,00 (3)	142,00 (5)	<0,001*	0,51
Šlapalas (mmol/l)	5,80 (4,2)	5,80 (4,0)	<0,001*	0,38
Spektrofotometriniai tyrimo metodai				
Kreatininas (μ mol/l)	86,00 (39)	91,00 (40)	<0,001*	0,43
Bendras baltymas (g/l)	68,50 (9)	65,00 (8)	<0,001*	0,50
Albuminas (g/l)	40,50 (4)	42,00 (4)	<0,001*	0,55
Bendras bilirubinas (μ mol/l)	5,10 (4,9)	3,20 (6,7)	<0,001*	0,43
ALT (U/l)	24,50 (20)	22,00 (22)	<0,001*	0,43
AST (U/l)	25,50 (21)	23,00 (14)	<0,001*	0,45
GGT (U/L)	10,50 (28)	1,00 (22)	<0,001*	0,49
Mg (mmol/l)	0,83 (0,10)	0,80 (0,10)	<0,001*	0,47
Turbidimetriniai tyrimo metodai				
CRB (mg/l)	1,16 (5,17)	0,50 (0,0)	<0,001*	0,45
IgA (g/l)	1,91 (1,28)	1,80 (1,21)	<0,001*	0,56
IgM (g/l)	1,04 (0,61)	0,31 (0,22)	<0,001*	0,61
IgG (g/l)	11,30 $\pm$ 4,06	9,02 $\pm$ 3,22	<0,001*	0,62

$\bar{X}$ – vidurkis; SN – standartinis nuokrypis; Md – mediana; IQR – intervalas tarp kvartilių.

*Wilcoxon 'o testas, **porinis *Stjudent'o t* testas.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Tiriamasis darbas atliktas tiriant vizualiai atrinktus lipeminius pacientų kraujo serumo ar plazmos mėginius (N=127). Trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose buvo nuo 2,08 mmol/l iki 93,35 mmol/l, vidutinė trigliceridų koncentracija buvo $10,18 \pm 11,47$ mmol/l. Visų tirtų biocheminių analizių koncentracija tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose buvo matuojama du kartus prieš ir po mėginių apčiuoimo specialiu lipoproteinus surišančiu reagentu LipoClear.

Remiantis mūsų atliktų tyrimų rezultatais buvo nustatyta, kad visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijos pacientų kraujo serume ar plazmoje patikimai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apčiuoimo LipoClear reagentu. Nustatyta, kad lipemija reikšmingai mažino kalio, natrio, šlapalo, kreatinino, albumino bei reikšmingai didino bendro baltymo, bendro bilirubino, ALT, AST, GGT, magnio, CRB ir imunoglobulinų tyrimų rezultatus.

Ištyrę lipemijos poveikį keturiolikos biocheminių analizių rezultatams panašius į mūsų tyrimų rezultatus gavo ir N.R. Anderson'as su kolegomis. Šių mokslininkų tirtuose lipeminio kraujo serumo mėginiuose trigliceridų koncentracija buvo nuo 0,58 mmol/l iki 28,4 mmol/l, vidutinė trigliceridų koncentracija buvo 6,98 mmol/l. Nustatyta, kad lipemija patikimai reikšmingai mažino šlapalo, kreatinino, gliukozės bei reikšmingai didino albumino, bendro baltymo, bendro bilirubino, ALT, kalcio, fosforo ir cholesterolio tyrimų rezultatus [61]. H. J. Vermeer su kolegomis ištyrė lipemijos įtaką spektrofotometriniais metodais tiriamų biocheminių analizių rezultatams. Remiantis šių mokslininkų atliktų tyrimų duomenimis lipemija ($TG > 22,2$ mmol/l) patikimai reikšmingai didino GGT, CRB, CK-MB ir cholesterolio koncentraciją [60]. Kiti autoriai nurodė reikšmingą lipemijos įtaką cholesterolio, ALT, fosforo, kreatinino, šlapalo, geležies, šarminės fosfatazės, bendro baltymo, šlapimo rūgšties ir kalcio tyrimų rezultatams, kai trigliceridų koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose buvo nuo 1,35 mmol/l iki 24,40 mmol/l ($\bar{X} = 6,89$ mmol/l). Jie nustatė, kad lipemija didino cholesterolio ir ALT rezultatus bei mažino fosforo, kreatinino, šlapalo, geležies, šarminės fosfatazės, bendro baltymo, šlapimo rūgšties ir kalcio tyrimų rezultatus [5].

Lipemijos įtaką biocheminių tyrimų rezultatams patvirtina ir Jing Zhang Ji bei Qing H. Meng atliktų mokslinių tyrimų duomenys. Šių autorių tyrimų metu nustatyta, kad ceruloplazmino, haptoglobino, albumino, tiesioginio bilirubino, bendro bilirubino, ALT, AST, kreatinkinazės, GGT, didelio tankio cholesterolio ir laktatdehidrogenazės koncentracijos patikimai skyrėsi prieš ir po lipidų pašalinimo iš tiriamojo mėginio [64]. Reikšmingi skirtumai tarp tiriamų analizių koncentracijų prieš ir po lipemijos pašalinimo minimi ir kitų mokslininkų tiriamuosiuose darbuose, atliktuose Turkijoje [62,63].

Mūsų darbe, pagal *Cohen'o* kriterijų, buvo įvertintas lipemijos poveikio biocheminių tyrimų rezultatams stiprumas. Ištyrus 127 lipeminius kraujo serumo ar plazmos mėginius nustatyta, kad lipemija vidutiniškai įtakojo kalio ir šlapalo koncentracijų sumažėjimą bei bendro baltymo, bendro bilirubino, alaninaminotransferazės ir aspartataminotransferazės koncentracijų padidėjimą, stipriai mažino natrio, kreatinino, albumino bei didino γ -gliutamilttransferazės, magnio, C – reaktyvaus baltymo, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus. Nors daugumoje mokslinių publikacijų aprašoma lipemijos įtaka tiriamų analizių rezultatams, tačiau duomenų apie lipemijos poveikio stiprumą literatūroje nepavyko rasti.

Mūsų tyrimo metu taip pat buvo įvertinta lipemijos įtaka įvairiais metodais atliekamų tyrimų rezultatams esant skirtingai trigliceridų koncentracijai tiriamuosiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose. Mes nustatėme, kad $\leq 2,5$ mmol/l TG koncentracija reikšmingai didino keletos spektrofotometriniais metodais atliekamų tyrimų (bendro baltymo, ALT) ir daugumą turbidimetriniu metodu atliekamų tyrimų (imunoglobulinų) rezultatus, $\leq 3,39$ mmol/l TG koncentracija didino bendro baltymo, bendro bilirubino, ALT, AST, GGT, magnio, CRB, IgA, IgG ir IgM rezultatus bei mažino natrio, kreatinino ir albumino koncentraciją tiriamajame mėginyje. Lipemija, kurią sukėlė $\leq 4,0$ ir $\leq 5,0$ mmol/l TG koncentracija įtakojo visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių koncentracijų sumažėjimą arba padidėjimą, išskyrus kalio, rezultatus, $\leq 6,0$ mmol/l TG koncentracijos sukelta lipemija reikšmingai paveikė visų elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių rezultatus.

Naudodami kitą darbo metodiką JAV mokslininkų grupė įvertino lipemijos dydžio įtaką α -fetoproteino, albumino, ceruloplazmino, CK-MB, feritino, gliukozės, haptoglobino, hCG, ŽIV-1/2, IgA, IgG, IgM, progesterono, testosterono, TTH ir vitamino D tyrimų rezultatams. Atliktų tyrimų metu nustatyta, kad 5,61–22,20 mmol/l TG koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose reikšmingos įtakos tirtų analizių rezultatams neturėjo. Ištyrę mėginius, kuriuose TG koncentracija buvo nuo 22,26 mmol/l iki $\geq 55,50$ mmol/l šie mokslininkai nustatė, kad lipemija reikšmingai didino ceruloplazmino, haptoglobino, IgA ir IgG rezultatus bei mažino vitamino D koncentraciją tiriamuosiuose mėginiuose. Lipemija, kurią sukėlė $\geq 111,00$ mmol TG koncentracija tiriamuosiuose mėginiuose reikšmingai didino ceruloplazmino, haptoglobino, IgA, IgG, IgM rezultatus bei mažino feritino ir vitamino D tyrimų rezultatus [48].

Mūsų tyrimo metu fosforo, cholesterolio, geležies, šarminės fosfatazės, šlapimo rūgšties, kalcio, tiesioginio bilirubino, laktatdehidrogenazės, α -fetoproteino, ceruloplazmino, CK-MB, feritino, gliukozės, haptoglobino, hCG, ŽIV-1/2, progesterono, testosterono, TTH ir vitamino D koncentracijos atrinktuose lipeminiuose kraujo serumo ar plazmos mėginiuose nebuvo tiriamos, todėl duomenų apie lipemijos įtaką šioms analizėms neturime. Skirtumus tarp mūsų ir kitų autorių atliktų lipeminės interferencijos tyrimų rezultatų galėjo lemti skirtinga tyrimų metodika.

IŠVADOS

1. Visais elektrocheminiais, spektrofotometriniais ir turbidimetriniais metodais tirtų analizių rezultatai reikšmingai skyrėsi prieš ir po mėginio apnuošimo LipoClear reagentu;
2. Lipemija vidutiniškai įtakuoja kalio ir šlapalo koncentracijų sumažėjimą bei bendro baltymo, bendro bilirubino, ALT ir AST koncentracijų padidėjimą, stipriai mažina natrio, kreatinino, albumino bei didino GGT, magnio, CRB, IgA, IgG ir IgM tyrimų rezultatus;
3. Lipemijos įtaka tyrimo rezultatams priklauso nuo trigliceridų koncentracijos. Mėginio lipemija, kai TG koncentracija buvo $\leq 2,5$ mmol/l įtakuoja daugumą turbidimetrinio metodu atliekamų tyrimų (imunoglobulinų) rezultatus ir keletos spektrofotometriniais metodais atliekamų tyrimų (bendro baltymo, ALT) rezultatus, o $TG \leq 3,39$ mmol/l jau įtakuoja visų, išskyrus elektrocheminiais metodais atliktų tyrimų (kalio ir šlapalo) rezultatus.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Chawla R, Goswami B, Tayal D, Mallika V. Identification of the types of preanalytical errors in the clinical chemistry laboratory: 1-year study at G.B. Pant hospital. *Lab Med* 2010; 4(2):89–92.
2. Chance J. Blood testing: choosing the right specimen. BD indispensable to human health. *Laboratory notes*, 2002;11(1):1–6. [internet] [cited 2017 March 29]. Available from: https://www.bd.com/vacutainer/labnotes/pdf/Volume11Number1_VS7105.pdf.
3. Plebani M. Laboratory medicine: value for patients is the goal. *Clin Chem* 2007;53(10):1873–1874.
4. Abdollahi A, Saffar H, Saffar H. Types and frequency of errors during different phases of testing at a clinical medical laboratory of a teaching hospital in Tehran, Iran. *N Am J Med Sci* 2014;6(5):224–228.
5. Biljali S, Beadini N, Beadini S, Nuhii N, Beadini A. Effect of lipemia interferences in routine clinical biochemical tests (intralaboratory study). *St Sci Res Essays* 2015;3(7):187–191.
6. Saibaba S, Bhaskar MV, Rao S, Ramana GV, Dakshinamurthy KV. Interferences in clinical chemistry analysis. *Indian J Clin Biochem* 1998;13(2):55–62.
7. Datta R. Hand book of drug monitoring methods. Effect of hemolysis, high bilirubin, lipemia, paraproteins, and system factors on therapeutic drug monitoring. Chapter 5;2008. p. 97–107.
8. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem* 1994;40(11):1996–2005.
9. Goswami B, Singh B, Chawla R, Mallika V. Evaluation of errors in a clinical laboratory: a one-year experience. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:63–66.
10. Glick MR, Ryder KW, Glick SJ, Woods JR. Unreliable visual estimation of the incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from hospitalized patients. *Clin Chem* 1989;35:837–839.
11. Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochem Med* 2011;21:160–166.
12. Glueck CJ, Khan NA, Umar M, Uppal MS, Ahmed W, Morrison JA, et. al. Insulin resistance and triglycerides. *J Investigative Med* 2009;57:874–878.
13. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev* 2008;29(1):43–48.
14. Arambarri M, Oriol A, Sancho JM, Roncales FJ, Galan A, Galimany R. Interference in blood coagulation tests on lipemic plasma. Correction using n-hexane clearing. *Sangre (Barc)* 1998;43:13–9.
15. Nicolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Bioch Med* 2014; 24(1):57–67.

16. Simundic AM, Nikolac N, Ivankovic V, Kvaternik M, Topic E. Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye?. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(11):1361–1365.
17. Coj A, Vitkus D. Rekomendacijos atpažinti hemolizuotus, ikterinius ir lipeminius ėminius ir išvengti kliniškai svarbių trukdžių. *Laboratorinė medicina* 2003;2(18):24–30.
18. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zavta B. Samples: for the patient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results, 3rd ed; 2003. p. 76–79.
19. Crook MA. Clinical biochemistry and metabolic medicine. 8nd ed, Chapter 13; 2012. p. 200–202.
20. Sethi AA, Warnick GR, Remaley AT. Clinical chemistry: techniques, principles, correlations. Lipids and lipoproteins. 6nd ed, Chapter 14; 2010. p. 329–330.
21. Praškevičius A, Stasiūnienė N. Lipidų apykaita. Kaunas; 2000. p. 151–166.
22. Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE. Clinical chemistry: techniques, principles, correlations. 6nd, Chapter 14; 2010. p. 331.
23. Vance DE, Vance JE. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. 4nd ed, Chapter 18; 2002. p. 483–503.
24. Soh J, Josekutty J, Hussain MM. Clinical diagnosis and management of laboratory methods: lipids and dislipoproteinemia. 22nd, Chapter 17; 2011. p. 228.
25. Kučinskienė ZA. Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai. Vilniaus universiteto leidykla; 2008. p. 246–258.
26. Julve J, Martin-Campos JM, Escola-Gil JC, Blanco-Vaca F. Chylomicrons: advances in biology, pathology, laboratory testing and therapeutics. *Clin Chim Acta* 2016;455:134–148.
27. Cooper AD. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J Lipid Res* 1997;38:2173–2192.
28. Hussain MM, Kedeas MH, Singh K, Athar H, Jamali NZ. Signposts in the assembly of chylomicrons. *Front Biosci* 2001;6:320–331.
29. Razinkovienė L. Cholesterolis. *Laboratorinė medicina* 2003;2(18):39.
30. Jonas A. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes: lipoprotein structure, 4nd, Chapter 18; 2002. p. 483–498.
31. Kazmierczak SC. Hemolysis, Lipemia, and high bilirubin effect on laboratory tests. In: Dasgupta A, Sepulveda JL. Accurate results in the clinical laboratory: a guide to error detection and correction. Chapter 5; 2013. p. 58–60.
32. Kroll MH. Evaluating interference caused by lipemia. *Clin Chem* 2004;50(11):1968–1969.
33. Gruffat D, Durand D, Graulet B, Bauchard D. Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver. *Reprod Nutr Dev* 1996;36:375–389.

34. Feingold KR, Grunfeld C. Introduction to lipids and lipoproteins. [internet] 2015 Jun 10 [cited 2016 Nov 01]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>.
35. Lindenbach BD, Rice CM. The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. Box 1, Synthesis and function of serum lipoproteins. *Nat Rev Microbiol* 2013;11:692.
36. Kruth HS. Sequestration of aggregated low-density lipoproteins by macrophages. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:483–488.
37. George H, Phillips R, Phillips MC. High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21(3):229–238.
38. Segrest JP, Li L, Anantharamaiah GM, Harvey SC, Liadaki KN, Zannis V. Structure and function of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:105–115.
39. Morgan J, Carey C, Lincoff A, Capuzzi D. High-density lipoprotein subfractions and risk of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:359–365.
40. Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Bjorkegren J, Bond MG, Faire U et al. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation* 1999;100:723–728.
41. Mainali S, Davis SR, Krasowski MD. Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests. *Pract Lab Med* 2017;8:1–9.
42. Ren T, Cong L, Wang Y, Tang L, Tian B, Lin X, et. al. Lipid emulsions in parenteral nutrition: current applications and future developments. *Expert Opin Drug Deliv* 2013;10(11):1–17.
43. Grunbaum AM, Gilfix BM, Gosselin S, Blank DW. Analytical interferences resulting from intravenous lipid emulsion. *Clin Toxicol* 2012;50:812–817.
44. Dimeski G. A commentary on the effect of lipid emulsions on pathology tests. *Anaesthesia* 2009;64:1033–1035.
45. Nikolac N, Simundic AM, Miksa M, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Caruso B, et. al. Heterogeneity of manufacturers declarations for lipemia interference – urgent call for standardization. *Clin Chim Acta* 2013;426:33–40.
46. Davis K. Hyperlipidemia: causes, diagnosis and treatments. [internet] 2015 Jun 18 [cited 2016 Nov 11]. Available from: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/295385.php>.
47. Jawalekar S. The hyperlipoproteinemia - an approach to diagnosis and classification. *Physiol Biochem* 2012;1(1):1–3.
48. Agarwal S, Vargas G, Nordstrom C, Tam E, Buffone GJ, Devaraj S. Effects of interference of hemolysis, ictericus and lipemia on routine pediatric clinical chemistry assays. *Clin Chim Acta* 2015;438:241–245.

49. Adiga U, Malawadi BN. Lipemic index – a tool to measure lipemia. *Int J Med Res Rev* 2016;4(4):613–616.
50. Twomey PJ, Don-Wauchope AC, McCullough D. Unreliability of triglyceride measurement to predict turbidity induced interference. *J Clin Pathol* 2003;56:861–862.
51. Andrade NNN, Oliveira MV, Souza CL. Procedures to minimize interference of hypertriglyceridemia in laboratory exams of lipemic samples in acute pancreatitis: a case report. *Brazil Pathol Lab Med* 2016;52(2):103–106.
52. Gobert De Paepe E, Munteanu G, Schischmanoff PO, Porquet D. Haemolysis and turbidity influence on three analysis methods of quantitative determination of total and conjugated bilirubin on ADVIA 1650. *Ann Biol Clin* 2008;66:175–82.
53. Steen G, Klerk A, Laan K, Eppens EF. Evaluation of the interference due to haemoglobin, bilirubin and lipids on Immulite 2500 assays: a practical approach. *Ann Clin Biochem* 2011;48:170–175.
54. Harr RR. Medical laboratory science review: clinical chemistry. 4th ed., Chapter 5; 2013. p. 310.
55. Sen S, Ghosh P, Ghosh TK, Das M, Das S. A study on effect of lipemia on electrolyte measurement by direct ion-selective electrode method. *Biomolec Res Therap* 2016;5(2):1–6.
56. Favalaro EJ, Funk DM, Lippi G. Preanalytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in hemostasis. *Lab Med* 2012;43(2):1–10.
57. Woolley A, Golmard JL, Kitchen S. Effects of haemolysis, icterus and lipemia on coagulation tests as performed on stago STA-Compact-Max analyser. *Int J Lab Hematol* 2016;38:375–388.
58. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med* 2014;24(1):57–67.
59. CLSI C56-A document. Approved guideline. Hemolysis, icterus, and lipemia/turbidity indices as indicators of interference in clinical laboratory analysis. Clinical laboratory standards institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2012.
60. Vermeer HJ, Steen G, Naus AJ, Goevaerts B, Agricola PT, Schoenmakers CH. Correction of patient results for Beckman Coulter LX-20 assays affected by interference due to hemoglobin, bilirubin or lipids: a practical approach. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:114–119.
61. Anderson NR, Slim S, Gama R, Holland MR. Lipemia: an overrated interference?. *Br J Biomed Sci* 2005;287:44–37.
62. Turkmen YH, Serdar MA, Haşimi A, Cihan M, Kurt I, Akman S, et. al. The effects of hemolysis and lipemia on biochemical analyses and comparison of the methods used in the elimination of lipemic effect. *Gulhane Med J* 2007;49(1):5–10.
63. Akyurek F, Sivrikaya A, Dundar N, Ozturk B, Vatansev H, Unlu A. The effects of lipemia on biochemical analysis. *Turk J Biochem* 2012;37(1):278.

64. Ji JZ, Meng QH. Evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin, and lipids on Roche Cobas 6000 assays. *Clin Chim Acta* 2011;412:1550–1553.