

K OTÁZCE HODNOTY STANOVENÍ CELKOVÝCH LIPIDŮ PRO DEPISTÁŽ HYPERLIPOPROTEINÉMIÍ

Plk. MUDr. František VOREL, CSc., pplk. MUDr. Jiří SVAČINKA, CSc.,
pplk. RNDr. PhMr. Zdeněk MAKOČ, CSc.
Ústav leteckého zdravotnictví, Praha

V rámci prevence ICHS u létajícího personálu ČSLA jsme byli postaveni před úkol provádět depistáž poruch lipidového metabolismu. Jednou z možností, jak tyto poruchy vyhledávat, bylo i stanovení celkových lipidů. Jeho informační hodnota pro screening hyperlipoproteinémií (HLP) však není dosud jednoznačně vyjasněna [12, 13, 4, 8].

Pro řešení této otázky jsme využili kritérií hodnotících přesnost a správnost vybrané laboratorní metody a dále porovnání nálezů získaných stanovením celkových lipidů (event. i cholesterolu) se stanovením cholesterolu a triglyceridů. Nakonec jsme se pokusili zlepšit zachytlost hyperlipoproteinémií ve screeningu využitím matematicko-statistických postupů odhadu hladiny triglyceridů ze stanovení cholesterolémie a lipidémie.

Materiál a metoda

V letech 1975 až 1977 jsme vyšetřili soubor 508 mužů — příslušníků létajícího personálu ČSLA ve věku od 20 do 56 let. Vyšetřovaným byla odebrána krev po jednodenní hospitalizaci za dodržování standardních podmínek (12 hodin hladovění, odběr ráno na lačno bez zatažení kubitální vény). V séru byl mimo jiné stanoven celkový cholesterol, celkové lipidy a triglyceridy.

Celkové lipidy i celkový cholesterol jsme stanovili soupravami chemikálií n. p. Lachema. Principem metody stanovení celkových lipidů je sulfofosfovanilinová (SPV) reakce v modifikaci Zöllnera a Kirsche [19] a Chromého et al. [7], u cholesterolu jde o modifikovanou metodu podle Watsona [17]. Triglyceridy jsme stanovili semienzymatickou metodou podle Eggsteina a Kreutze [3] a Schmidta a von Dahla [11] při použití setů fy. Boehringer.

Ke kontrole přesnosti a správnosti při stanovení celkových lipidů jsme využívali kontrolních sér fy. Hyland s deklarovanou hodnotou a kontrolního séra Reptest n. p. Imuna. V rámci vnitřní kontroly kvality práce laboratoře jsme je přidávali na začátek každé série stanovení a po každých dvanácti vzorcích. Přesnost jsme hodnotili jako reprodukovatelnost v sérii a po dnech, správností pak rozumíme míru shody mezi skutečným obsahem zjišťované látky a naměřeným výsledkem.

Získané výsledky jsme zpracovali vhodnými

matematicko-statistickými metodami. Výpočty byly provedeny na mikropočítači Olivetti Programma P 102.

Výsledky

Z vyšetřených vzorků kontrolních sér jsme pro hodnocení přesnosti práce, vyjádřené jako reprodukovatelnost po dnech, použili pouze jedno, a to první kontrolní stanovení z každého dne. Výsledky hodnocení reprodukovatelnosti v sérii a po dnech za celé sledované údobí uvádíme v tab. 1. Porovnání ukázalo, že variační koeficient byl po dnech 2,022krát vyšší a směrodatná odchylka 1,827krát vyšší než v sérii. Ověřili jsme si také, že přesnost práce nebyla významně ovlivňována výskytem hrubých chyb, za něž jsme považovali hodnoty mimo rozmezí $x \pm 3s$.

Přesnost jsme dále vyjádřili analytickou chybou jednotlivého stanovení a z ní odvozeným variačním koeficientem. V průběhu kontrolovaných pěti časových úseků se hodnota tohoto parametru systematicky snižovala z 3,645 % na 1,541 %.

Pro hodnocení správnosti získaných výsledků (tab. 2) jsme použili referenčních hodnot kontrolního séra Hyland s různým obsahem celkových lipidů. Při stanovení v sérii se lišíme o -10,4 % deklarované hodnoty, přičemž průměrná hodnota našich měření leží uvnitř výrobcem udávaného rozmezí. Při stanovení po dnech se průměrný rozdíl pohybuje v rozmezí -4,0 % až -19,0 %. Přitom především u kontrolních sér s vyšším obsahem celkových lipidů leží naše průměrné hodnoty mimo výrobcem udávané rozmezí.

Pro porovnání uvádíme, že při stanovení cholesterolémie a triglyceridémie bylo externí kontrolou kvality práce prokázáno, že naše laboratoř splňuje, pokud jde o přesnost a správnost, limity doporučené WHO.

Ve srovnání se stanovením cholesterolémie je přesnost metody stanovení lipidémie více než dvakrát horší. Správnost stanovení lipidémie (usuzováno z analýz kontrolních sér) je neuspokojivá, zejména z hlediska kolísání hodnot, neboť v našem případě se průměrné výsledky pohybují mezi 81 % až 96 % deklarované hodnoty. Ověřili jsme si, že tyto horší výsledky nejsou způsobeny nepřesností práce.

Vzhledem k definované úloze stanovení celkových lipidů při rozpoznávání hyperlipopro-

Tab. 1

Reprodukovatelnost stanovení celkových lipidů v sérii a po dnech v letech 1975–1977

		$\bar{x}$	s	$\bar{x} \pm 2s$	v	n
v sérii (H-3)		856,800	34,094	788,6—925,0	3,979	20
po dnech	1975 (H-2)	451,461	34,637	382,2—520,7	7,672	52
	1975 (H-1)	475,071	25,430	424,2—525,9	5,352	28
	1976 (H-3)	840,103'	38,711	762,7—917,5	4,607	97
	1977 (H-3)	774,281	62,306	649,7—898,9	8,046	32
	1976—1977 (R)	768,951	60,519	647,9—890,0	7,870	62

v = variační koeficient (%); $\bar{x} \pm 2s$ = interval spolehlivosti; H = kontrolní sérum Hyland (H-1 = 495 mg%; H-2 = 545 mg%; H-3 = 956 mg%); R = kontrolní sérum Reprotest

Tab. 2

Správnost stanovení celkových lipidů v sérii a po dnech

	mg%	%	mg%	%	mg%	%
H } průměr rozmezí	545 515—575	100	495 467—523	100	956 846—1066	100
v sérii					856,800	89,6
po dnech	1975	451,461	82,8			
	1975			475,071	96,0	
	1976				840,103	88,0
	1977				774,281	81,0

H = kontrolní sérum Hyland

teinémií a vzhledem k námi dříve nalezeným korelacím mezi cholesterolémií, triglyceridémií a lipidémií navzájem, jsme se pokusili pomocí mnohonásobné korelační analýzy s použitím lineárního modelu zjistit, zda by nebylo možné využít stanovení celkových lipidů a cholesterolu k odhadu triglyceridémie. Chtěli jsme tak ohodnotit míru informace, kterou stanovení lipidémie přináší, a odstranit malou citlivost používaných kritérií pro hraniční a patologické hodnoty celkových lipidů při diagnostice poruch lipidového metabolismu.

Na jedné části našeho souboru ($n = 425$) jsme provedli mnohonásobnou korelační a regresní analýzu. Pro vztah triglyceridy (y) — [cholesterol (x_1), lipidy (x_2)] jsme našli

$$R_{y/x_1x_2} = 0,719 \quad (p < 0,01)$$

$$y = -117,832 - 0,489 x_1 + 0,578 x_2$$

$$s_y^2 / x_1x_2 = 3114,880$$

$$s_y / x_1x_2 = 55,811$$

Po zpětném výpočtu triglyceridémie jsme výsledky výpočtu porovnali při použití zvole-

Tab. 3

Normy pro cholesterolémii, triglyceridémii a lipidémii (mg%)

věk	Cholesterolémie			Triglyceridémie			Lipidémie		
	N	H	P	N	H	P	N	H	P
≤29	≤240	241—260	>260	≤150	151—180	>180	≤800	801—1000	>1000
≥30	≤260	261—300	>300	≤170	171—200	>200			

N = normální; H = hraniční; P = patologická; hodnoty hraniční a patologické použity pro diagnostiku HLP

ných kritérií normálních a zvýšených hladin (tab. 3) se skutečně nalezenou triglyceridémií a vypočítali jsme citlivost a specifitu tohoto postupu pro stanovení hypertriglyceridémie (10). Zjistili jsme 72,2% citlivost a 79,5% specifitu. Shodu odhadu s přímým stanovením triglyceridémie ve smyslu „normální nebo zvýšená“ jsme dosáhli v 77,6 %.

Naše úloha ve skutečnosti spočívá v rozpoznání HLP, kdy může být zvýšená hladina cholesterolu nebo triglyceridů, nebo cholesterolu i triglyceridů. Proto jsme provedli porovnání odhadnutých i naměřených hodnot triglyceridémie se současnou klasifikací cholesterolémie a znovu vypočítali citlivost a specifitu. Zjistili jsme 77,5 % citlivost a 80,2 % specifitu. Shodu odhadu s přímým stanovením ve smyslu „HLP je či není přítomna“ jsme dosáhli v 79,3 %.

Abychom si ověřili reprodukovatelnost tohoto výsledku na jiném souboru dat, opakovali jsme postup výpočtu pro hypertriglyceridémii z téže regresní rovnice u druhé části našeho souboru (n = 83). Zjistili jsme 34,2% citlivost a 97,7% specifitu. Citlivost se tedy výrazně zhoršila, specifita se výrazně zlepšila. Při pátrání po příčině jsme zjistili, že v době stanovení lipidémie u osob tohoto souboru byla správnost metody (posuzováno z analýz kontrolního séra) vzhledem k deklarovaným hodnotám v průměru horší (výsledky byly nižší) než při analýzách osob u prvního souboru, z něhož byla regresní rovnice vypočítána. Musela se proto zcela zákonitě zhoršit citlivost a zlepšit specifita. Je pochopné, že jen malé zhoršení správnosti (z 88,3 % na 82,8 %, tj. o 5,5 % deklarované hodnoty) vedlo k tak velké změně v citlivosti a specifitě. Výsledky získané na druhém souboru dat jsou již pro praxi naprosto nepřijatelné.

V další sledované alternativě jsme vypočítali senzitivitu a specifitu samotného stanovení celkových lipidů pro diagnostiku HLP přímo z výsledků laboratorních analýz (tab. 4). Ukázalo se, že pro dosažení postačující senzitivity a specifity metody by bylo třeba

Tab. 4

Senzitivita a specifita stanovení celkových lipidů pro rozpoznání poruch lipidového metabolismu, shoda s přímým stanovením cholesterolu a triglyceridů

Norma pro celkové lipidy (mg%)		Senzitivita (%)	Specifita (%)	Shoda (v %) (HLPano nebo ne)
normální	zvýšené			
—600	>600	88,1	63,2	72,3
—650	>650	79,4	79,4	79,4
—700	>700	60,9	88,1	78,3
—800	>800	31,7	98,1	73,9
—900	>900	16,1	99,6	69,0

v našich podmínkách uvažovat jako hraniční nižší hodnoty lipidémie, než se běžně udává.

Při současném stanovení hladiny celkového cholesterolu a celkových lipidů se nezměnila specifita, stoupla však senzitivita, zejména při vyšších hladinách celkových lipidů (tab. 5).

Význam stanovení celkových lipidů při screeningu HLP jsme také vyjádřili výpočtem prediktivní hodnoty. Výpočet z našeho materiálu (n = 508) poskytl výsledky znázorněné v tabulce 6. Na hladinách celkových lipidů běžně užívaných pro tento výpočet jsme dostali vyšší hodnoty prediktivity, než se v literatuře udává (6).

Diskuse

Při řešení problematiky informační hodnoty každé laboratorní metody si musíme vždy nejdříve položit otázku její spolehlivosti. Jednou ze základních podmínek jejího dosažení je vysoká úroveň kvality laboratorní práce. Pro její hodnocení jsme v naší laboratoři při studiu poruch lipidového metabolismu z celé řady parametrů určujících spolehlivost metody považovali za nejzávažnější správnost a přesnost. Přesnost jsme při stanovení celkových

Tab. 5

Senzitivita a specificita stanovení cholesterolu a celkových lipidů pro rozpoznání poruch lipidového metabolismu, shoda s přímým stanovením cholesterolu a triglyceridů

Věk	Norma pro cholesterol (mg%)		Norma pro celkové lipidy (mg%)		Senzitivita (%)	Specificita (%)	Shoda (%) (HLP ano nebo ne)
	normální	zvýšené	normální	zvýšené			
≤ 29	≤ 240	> 240	—600	> 600	89,7	63,2	72,9
			—650	> 650	81,6	79,4	80,2
			—700	> 700	67,7	88,1	80,6
≥ 30	≤ 260	> 260	—800	> 800	42,7	98,1	78,3
			—900	> 900	35,4	99,6	76,1

Tab. 6

Prediktivní hodnota stanovení celkových lipidů pro rozpoznání HLP

Celkové lipidy (mg%)	Prediktivní hodnota (%) (HLP ano) — naše výsledky	n	Prediktivní hodnota (%) podle Galena a Gambina (1975)
> 700	76,0	150	31,1
> 800	92,1	64	49,6
> 900	96,7	31	68,1

lipidů vyjadřovali reprodukovatelností v sérii a po dnech. Přitom byla splněna požadovaná zásada, aby hodnota variačního koeficientu po dnech nepřesáhla trojnásobek jeho hodnoty v sérii.

Při hodnocení reprodukovatelnosti po dnech se jako pravidlo uznává, že variační koeficient by se měl při stanovení enzymatických aktivit pohybovat v rozmezí 5–10 %, u substrátových pak mezi 3–5 % (9). V laboratořích, které se věnují rutinní analýze lipidů, se přesnost práce vyjádřená variačním koeficientem pohybuje mezi 3–10 % (8). Zkušenosti z československých pracovišť odpovídají horní polovině uvedeného rozpětí (14).

Variační koeficient reprodukovatelnosti po dnech při stanovení celkových lipidů se v naší laboratoři pohyboval v rozmezí 4,6–8,0 %. Přitom jsme nemohli v jednotlivých časových údobích vystopovat určitý trend změny. Nepodařilo se tedy přesnost stanovení udržet v průběhu celého sledovaného období v požadovaných hodnotách pod 5 %. V porovnání s některými pracemi překračujeme údaje o přesnosti

(18, 5), s jinými jsme však ve shodě. Přitom přesnost naší práce při stanovení celkových lipidů je podstatně horší než u současně prováděných stanovení celkového cholesterolu a triglyceridů, u nichž se navíc tento parametr od zavedení metody systematicky zlepšoval. Z toho vyplývá, že příčinou nedostatečné přesnosti při stanovení celkových lipidů i jejího kolísání není sama laboratorní práce. To lze dokumentovat i kritériem výskytu hrubých chyb, pozorovaných jen ojediněle (celkem pětkrát), a to pouze v letech 1975 a 1976. V roce 1977 jsme žádnou hrubou chybu nezaznamenali.

Pro hodnocení správnosti stanovení jsme použili referenčních hodnot kontrolních sér fy. Hyland. Měřítkem byla shoda výsledků s výrobcem deklarovanými hodnotami a jejich rozmezím. Kritérium rozmezí splňovalo naše stanovení v sérii, zatímco při stanovení po dnech, především u sér s vyšším obsahem celkových lipidů, leží námi zjišťované hodnoty pod jeho dolní hranicí. Zcela nevyhovující bylo zejména velké kolísání správnosti bez jakéhokoliv trendu. Není zde tedy opět souvislost s kvalitou práce laboratoře. Přesto, že jsme zavedení metody stanovení celkových lipidů věnovali stejnou pozornost jako metodám stanovení cholesterolu a triglyceridů, nebyly ve srovnání s nimi naše výsledky, pokud jde o správnost a přesnost, uspokojivé.

Vlastní hodnota stanovení celkových lipidů pro rozpoznání poruch lipidového metabolismu je dnes aktuální otázkou, neboť zejména v našich podmínkách často chybí možnost provádět stanovení triglyceridů v potřebném rozsahu spolehlivými metodami. To však není jediný důvod, neboť stanovení tohoto parametru užívají i pracovníci, kteří tyto problémy zřejmě nemají (15). Názory na hodnotu stanove-

ní celkových lipidů u nás kolísají od úplně zamítavého stanoviska Skořepy [12] — „je to mrhání finančními prostředky“ — až po umírněný názor Šobrův [13] — „zatím nemáme pro masové použití nic lepšího“. Jiní pracovníci prostě toto stanovení používají a ptají se na jeho hodnotu. Tuto otázku jsme se dále pokusili řešit ze dvou hledisek, a to jednak jako hodnotu stanovení celkových lipidů samotných, jednak společně se stanovením celkového cholesterolu.

Nejdříve jsme hodnotili možnost odhadu triglyceridémie ze stanovení cholesterolu a celkových lipidů pomocí metod mnohonásobné korelační a regresní analýzy. Ukázalo se, že tak lze dosáhnout ve srovnání s citlivostí a specificitou jiných běžně užívaných screeningových metod pro depistáž HLP srovnatelné výsledky [1], zvláště když se uvažuje současné stanovení cholesterolémie. Jestliže jsme ale zkontrolovali reprodukovatelnost tohoto postupu na jiném souboru dat, dostali jsme podstatně horší výsledky. Ty však jsou způsobeny, jak jsme zjistili, kolísající správností stanovení celkových lipidů.

Potom jsme se zabývali výpočtem senzitivity a specificity stanovení celkových lipidů obvyklým způsobem. Dostali jsme opět s literaturou srovnatelné výsledky, ovšem s jediným rozdílem. S literaturou srovnatelné senzitivity a specificity (70 — 80 %) jsme dosáhli jen při nižších hodnotách celkových lipidů. Také námi stanovená prediktivita byla pro běžně udávané hodnoty celkových lipidů ve srovnání s literaturou vyšší [6]. Příčinu nespokojivých výsledků vidíme jednak v použitém standardu, který jako jedna chemicky definovaná substance nemůže dávat správné výsledky vzhledem k heterogennímu charakteru sérových lipidů, jednak ve zdroji proměnlivých chyb, daných vlastním metodickým postupem. Ani použití kontrolního séra jako standardu při stanovení lipidů SPV činidlem nedává uspokojivé výsledky, neboť různé frakce krevních lipidů se liší absorbancí [2].

Krevní lipidy mají značnou variabilitu složení danou zejména triglyceridy, které relativně snižují (ve srovnání s cholesterolem) absorbanci SPV reakce. Navíc absorbanci ovlivňuje i rozdílný obsah mastných kyselin v triglyceridech. Při této variabilitě pak ani nejlepší standard není schopen příliš zlepšit především správnost stanovení. Tedy hypertriglyceridémie má za následek stanovení relativně nižších a kolísajících hodnot celkových lipidů. Tato chyba je úměrná triglyceridémii. A právě v námi vyšetřovaném souboru jsme zjistili vysoký výskyt hypertriglyceridemií (40 %) a relativně nízký výskyt hypercholesterolemií (10 %). Proto jsme při výpočtu senzitivity a specificity došli k nižším hodnotám lipidů, dobře rozlišujícím normo- a hyperlipoproteinémie. Naopak běžně udávané hodnoty lipidémie měly vyšší prediktivitu. Relativně nižší absorbance triglyceridů při stanovení celkových li-

pidů byla také příčinou jevu, který jsme pozorovali při odhadu triglyceridémie výpočtem z regresní rovnice. Vysoké hodnoty triglyceridémie jsme totiž, zejména při nízké hladině cholesterolu, odhadovali příliš nízkou a naopak nízké hodnoty triglyceridémie byly odhadovány výše.

Obecně lze tedy očekávat značnou variabilitu nalezených hodnot celkových lipidů. Nižší přesnost, ale především nižší správnost snižují hodnotu stanovení celkových lipidů pro depistáž HLP zvláště tam, kde potřebujeme spolehlivě dosáhnout současně vysoké senzitivity a specificity metody (> 80 %). U souborů s relativně nízkým výskytem hypercholesterolémie (ve srovnání s výskytem hypertriglyceridémie) nelze tento nedostatek odstranit ani současným vyšetřením cholesterolémie. Obecně lze předpovědět, že publikované hodnoty hladiny celkových lipidů budou značně závislé na složení výběrových souborů. Tam, kde bude relativně větší výskyt hypercholesterolémie a nižší výskyt hypertriglyceridémie, budou nalezené hodnoty celkových lipidů relativně vyšší a naopak. Při screeningu však nikdy předem nevíme, jaký soubor z tohoto hlediska před sebou máme. Nízkou záchytnost HLP stanovením celkových lipidů u izolovaných hypertriglyceridemií zjistil také Engelhardt [4]. Z našich nálezu proto vyplývá, že jakákoliv norma pro zvýšenou hladinu celkových lipidů nemůže být obecně použitelná, nechceme-li riskovat velké chyby v hodnocení výsledků. V souladu s tím jsou i naše zkušenosti. Pro rozlišení normální a zvýšené hladiny celkových lipidů se často udává hodnota 800 mg%, kterou jsme převzali. Její použití vedlo v našem případě k neúnosně vysokému výskytu falešně negativních výsledků. Takové metody jsou však pro screening zcela nevhodné [8]. Navíc není shoda v názorech na horní hranici normálního rozsahu hladiny celkových lipidů. Tak Wagnerová [16] udává u zdravých lidí hodnotu 700 mg% a upozorňuje na možnost značných odchylek v rámci normálních hodnot.

Nižší pracnost screeningové metody je vždy zaplacená nižší informační hodnotou výsledků. Protože moderní trendy v diagnostice HLP zdůrazňují především diferenciaci, ztratily původní screeningové metody mnoho ze svého významu [8]. Používání metody stanovení celkových lipidů v rutinní praxi biochemického screeningu HLP je vlastně východiskem z nouze, neboť má nahradit tolik žádoucí stanovení hladiny triglyceridů (event. vedle cholesterolu) v séru. Přitom se vychází ze zásady „lepší něco nežli nic“. Když však uplatníme přísná kritéria (zejména požadavek vysoké záchytnosti hyperlipoproteinemií), která jsme vzhledem k vyšetřovanému souboru příslušníků létajícího personálu povinni prosazovat, ukáže se prověřovaná metoda jako zcela nepřespektivní.

Naše výsledky potvrzují, že hodnota stano-

vení celkových lipidů pro depistáž HLP je při uplatnění přísnějších kritérií zcela nevyhovující a neměla by být proto používána.

Souhrn

Autoři řeší otázku hodnoty stanovení celkových lipidů sulfofosfovanilinovou reakcí pro depistáž hyperlipoproteinémií (HLP) jednak z hlediska přesnosti a správnosti metody, jednak porovnáním získaných výsledků se současným přímým stanovením diagnosticky nejdůležitějších frakcí lipidového metabolismu — celkového cholesterolu a triglyceridů. Záchytnost HLP ve screeningu se pokusili zlepšit matematicko-statistickým postupem odhadu triglyceridémie ze stanovení lipidémie a cholesterolémie. Zjistili především nedostatečnou správnost studované metody a její nízkou senzitivitu a specifitu pro rozpoznávání HLP, která se projevuje v neúnosně vysokém výskytu falešně negativních výsledků.

Autoři diskutují příčiny těchto zjištění a docházejí k závěru, že hodnota fotometrického stanovení celkových lipidů je při uplatnění přísnějších kritérií pro depistáž HLP zcela nevyhovující, a proto její používání pro tyto účely nedoporučují.

Poděkování

Za technickou spolupráci jsou autoři zavázáni o. p. I. Šteffkové, B. Josífkové a B. Sochorové.

Práci by nebylo možno realizovat bez trvalého porozumění a podpory plk. MUDr. A. Dvořáka, CSc., a plk. MUDr. K. Botky a bez kvalitní spolupráce kolektivu sester lůžkového oddělení a o. p. E. Hlávkové.

Literatura

- Bielik, E. - Gregorová, E. - Švác, J.: Prevalencia hyperlipoproteinémií u nemocničných pacientov. Přednáška. IV. pracovní konference: Klinická a biochemická genetika hyperlipoproteinémií. 25. 5. 1977, Praha.
- Bumba, J. - Novák, K. - Janíček, A.: Otázka stanovení celkových lipidů při screeningu hyperlipoproteinémií. Přednáška. IV. celoštátní dny Klinické biochemie. 14.—15. 10. 1977, Nový Smokovec.
- Eggstein, M. - Kreutz, F. H.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. Klin. Wschr., 44, 1966, č. 5, s. 262—267.
- Engelhardt, A.: Untersuchung der Lipidstoffwechsels. Ärtzl. Lab., 15, 1969, č. 1, s. 27—30.
- Frings, S. - Fendley, T. W. - Dunn, R. T. - Queen, C. A.: Improved determination of total serum lipids by the sulfo-phosphovanilin reaction. Clin. Chem., 18, 1972, č. 7, s. 673—674.
- Galen, R. S. - Gambino, S. R.: Beyond normality. The predictive value and efficiency medical diagnoses. New York, J. Wiley and Sons 1975. 520 s.
- Chromy, V. - Kukla, R. - Hornakova, M. - Malimankova, A. - Belusa, J.: Oznaczenie lipidow całkowitych metoda sulfofosfo-wanilinowa, ustalenie optymalnych parametrów metody. Diagn. Lab., 11, 1975, č. 3, s. 231—241.
- Jaross, W. - Leonhardt, W. - Trübsbach, A. - Hanefeld, M.: Analyse der Lipide. In: Lipidstoffwechselstörungen. Eds.: H. Haller, M. Hanefeld, W. Jaross. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1975, s. 65 až 74.
- Richterich, R.: Klinische Chemie. 3. erweiterte Auflage, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, S. Karger 1971. 634 s.
- Rose, G. A. - Blackburn, M.: Cardiovascular survey methods. Geneva, World Health Organization 1968. 188 s.
- Schmidt, F. H. - Dahl, R. von: Zur Methode der enzymatischen Neutralfettbestimmung in biologischem Material. Z. klin. Chem. Biochem., 6, 1968, č. 3, s. 156—159.
- Skořepa, J.: Diskusní příspěvek. IV. pracovní konference: Klinická a biochemická genetika hyperlipoproteinémií. 25. 5. 1977, Praha.
- Šobra, J.: Diskusní příspěvek. IV. pracovní konference: Klinická a biochemická genetika hyperlipoproteinémií. 25. 5. 1977, Praha.
- Šobra, J.: Možnosti racionálního vyhledávání pacientů s familiárními hyperlipoproteinémiemi. In: Sborník Hyperlipoproteinémie. Mannheim, Boehringer Mannheim GmbH 1976, s. 73—115.
- Ter Welle, H. F. - Willebrands, A. F.: Serum lipid screening and typing of hyperlipoproteinemias with special reference to causes with normal and moderately elevated total lipids. Clin. chim. Acta, 39, 1972, č. 1, s. 183—190.
- Wagner, E.: Laboratoriumsmittelwerte im Serum unter besonderer Berücksichtigung der Serumgesamtlipide. Z. Alternforsch., 23, 1970, č. 2, s. 153 až 157.
- Watson, D.: A simple method for the determination of serum cholesterol. Clin. chim. Acta, 5, 1960, č. 4, s. 637—643.
- Woodman, D. D. - Price, C. P.: Estimation of serum total lipids. Clin. chim. Acta, 38, 1972, č. 1, s. 39—43.
- Zöllner, N. - Kirsch, K.: Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden (Mikromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen sulfophosphovanilin Reaction. Z. ges. exp. Med., 135, 1961, č. 5, s. 545 až 551.