

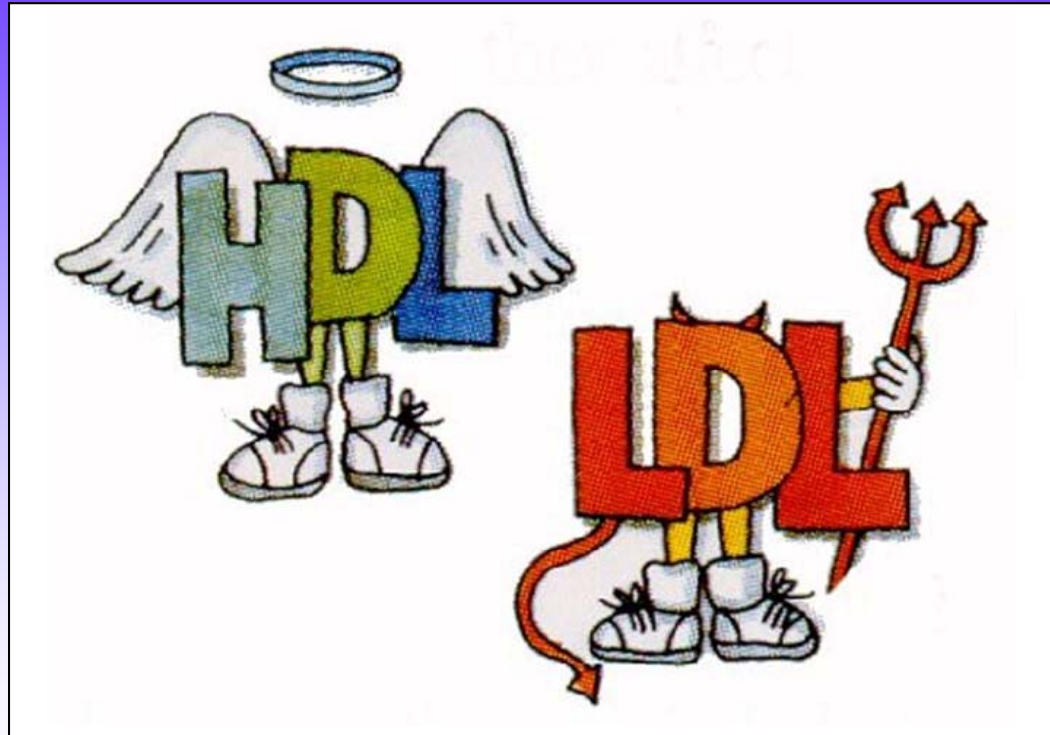
LIPOPRINT®

Prielom v manažmente cholesterolu

- Choroby srdcovo cievnych ochorení sú najčastejšia príčina úmrtia v SR
- Viac ako 150 000 hospitalizácií v SR ročne
- Viac ako 30 000 úmrtí ročne

Vedecké štúdie jasne preukázali, že lipidy a lipoproteíny sú veľmi úzko späté s koronárnymi srdcovými ochoreniami (CAD) spolu s inými genetickými a okolitými faktormi

- HDL cholesterol
(Dobrý)
- LDL cholesterol
(Zlý)



www.aeb.org/food/eggs-health.html

Bežné rizikové faktory nám nepovedia celý príbeh

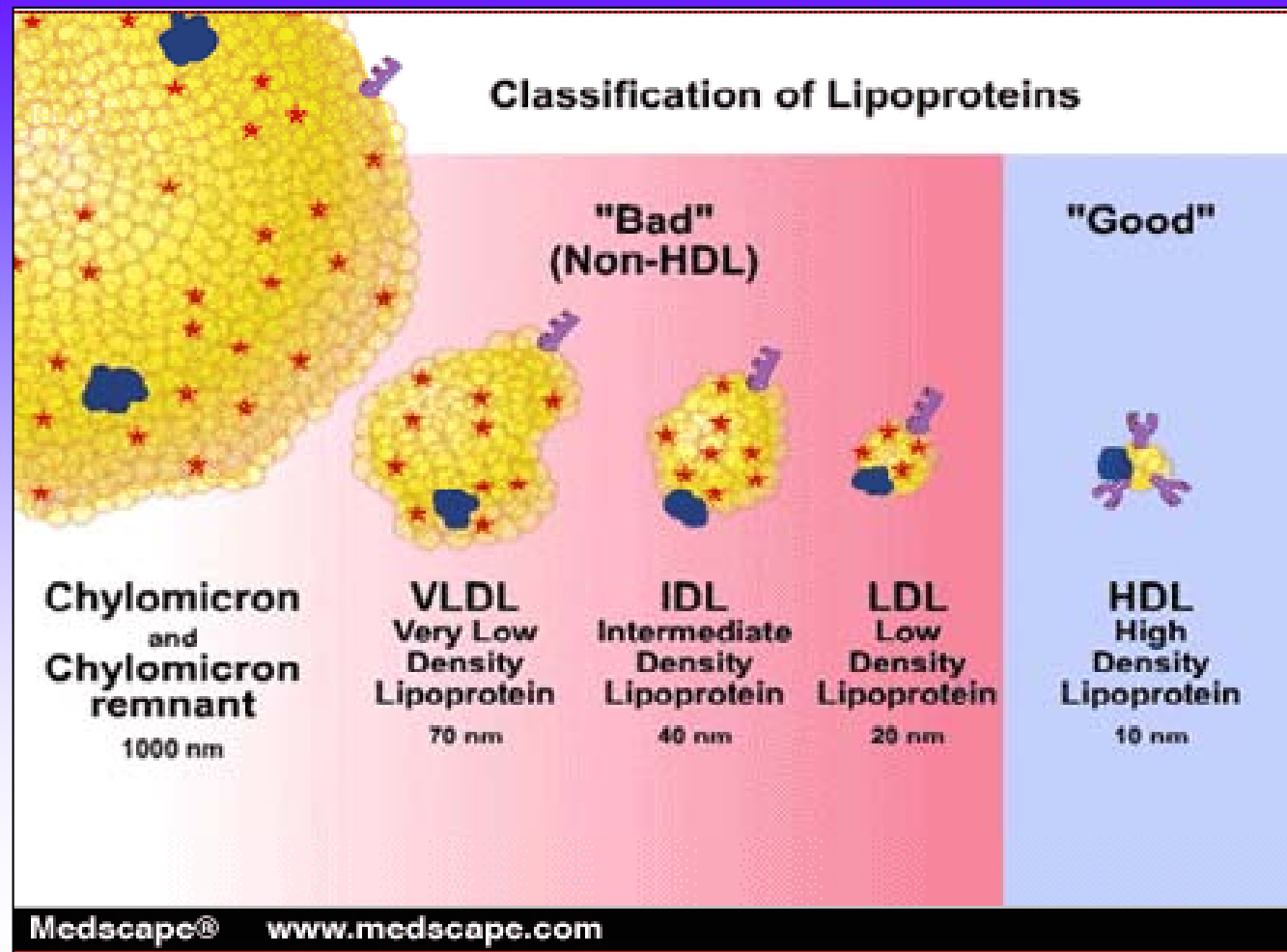
- Faktom zostáva, že približne 50% CAD sa vyskytuje medzi jednotlivcami s normálnou úrovňou lipidov
- Len 30% všetkých srdcových infarktov môže byť objasnených na báze merania samotného cholesterolu
- Aj pri určovaní podľa najsúčasnejších smerníc väčšina CAD ostane nevysvetlených

- Mnoho jednotlivcov s normálnym LDL a HDL cholesterolom stále podlieha riziku kardiovaskulárnych ochorení
- Títo sú dôkazom, že merania LDL a HDL cholesterolu nie sú dostatočným indikátorom rizika kardiovaskulárnych ochorení

- Lipidy sa nenachádzajú voľne v obehu
- Cholesterol, triglyceridy a fosfolipidy sú prepravované v čiastočkách menom lipoproteíny
- Lipoproteíny rozdeľujeme podľa veľkosti a chemického zloženia

Lipoproteíny boli klasifikované do piatich hlavných skupín v závislosti od ich hustoty

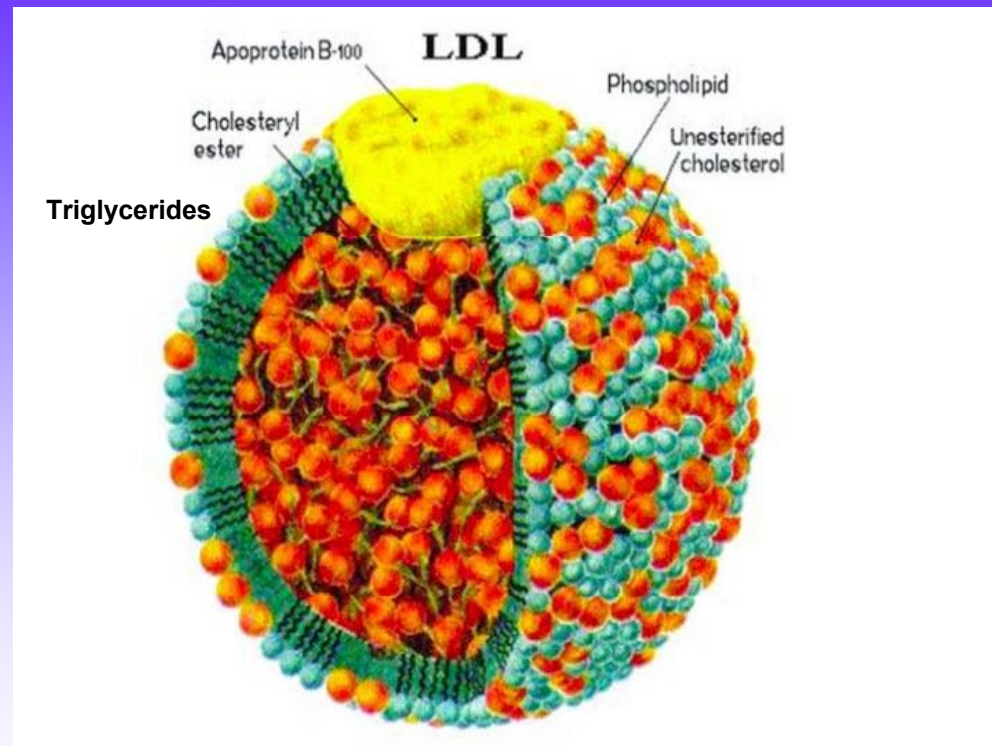
- Chylomikróny
- VLDL (very low density lipoprotein)
- IDL (intermediate density lipoprotein)
- LDL “zlý” (low density lipoprotein)
- HDL “dobrý” (high density lipoprotein)



Parameter	CHYLOMIKRÓNY	VLDL	IDL	LDL	HDL	LP(a)
Hustota (g/mL)	<0.95	095 - 1.006	1.006 - 1.019	1.019 - 1.063	1.063 - 1.210	1.040 - 1.130
Priemer (nm)	>70	25 - 70	22 - 24	19 - 23	4 - 10	25 - 30
Lipid: proteín	99:1	90:10	85:15	80:20	50:50	75:25
Hlavné lipidy	trigs	trigs	trigs, chol. Ester	chol. Ester	fosfolipidy	chol. Ester, fosfolipidy
Hlavné proteíny	A-I B-48 C-I, II, III	B-100 C-I, II, III E	B-100 E	B-100	A-I, II C-I, II, III E	(a) B-100

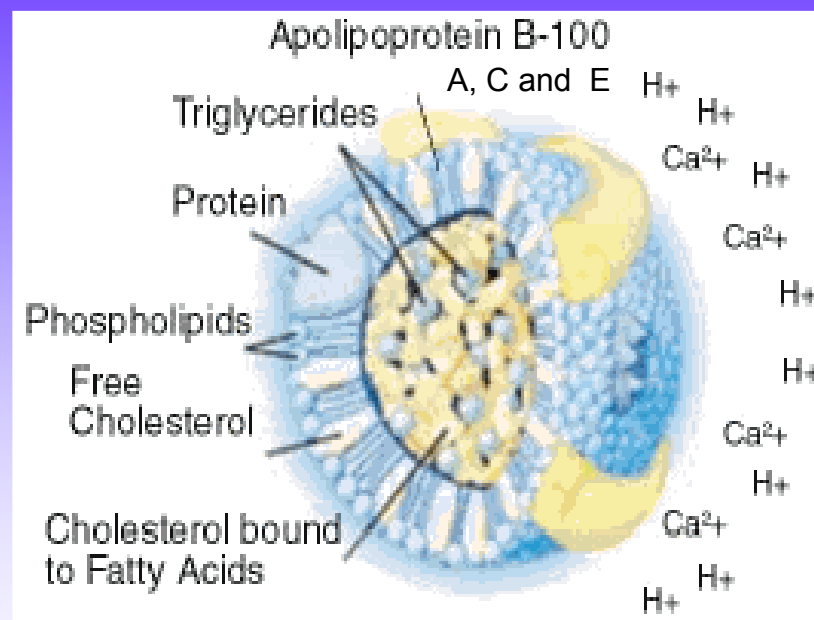
Zdroj: Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry (5th ed.); eds. C.A. Burtis, E.R. Ashwood; W.B. Saunders 2001

LDL čiastočka je primárnym nosičom cholesterolu v tele



Bioch.szote.u-szeged.hu/astrojan/Prot/Ld.jpg

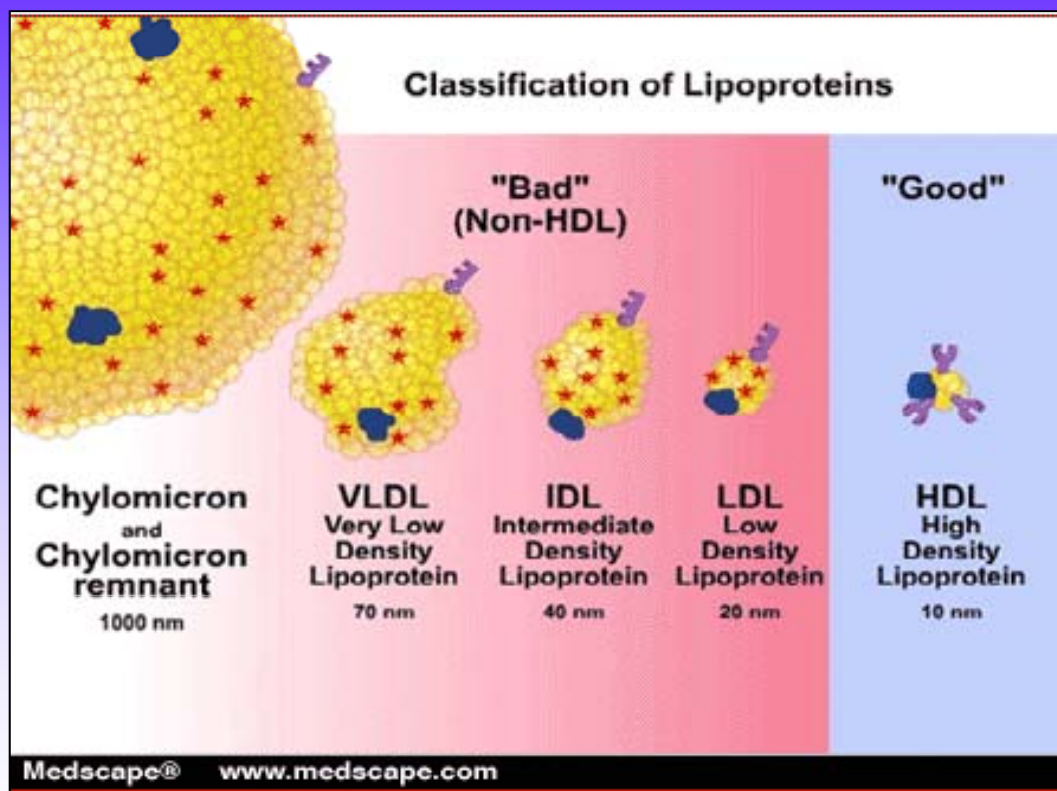
HDL čiastočka je zodpovedná
za odstránenie zvyškového
cholesterolu z tela



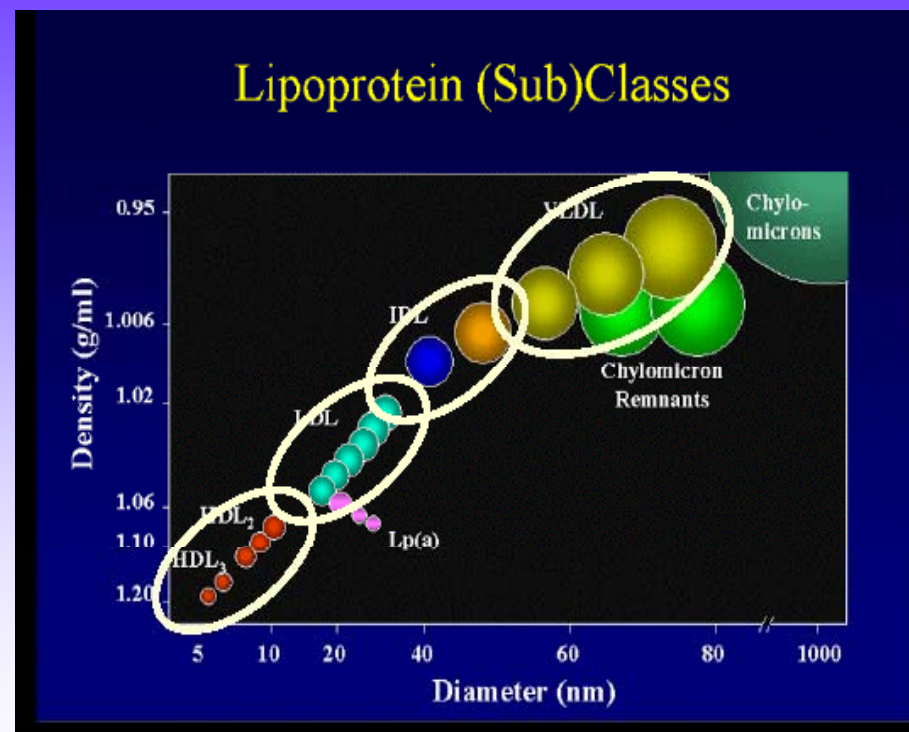
TRIEDY LIPOPROTEÍNOV SÚ HETEROGÉNNE

LIOPRINT®

Tieto triedy lipoproteínov sú heterogénne pozostávajúce z viacerých podtried každej triedy



- Chylomikróny: kontinuum čiaštočiek
- VLDL: kontinuum čiaštočiek
- IDL: tri podtriedy
- LDL sedem podtried
- HDL Až 10 podtried



- Veľké LDL podtriedy 1 a 2 predstavujú „dobré alebo normálne“ LDL, ktoré sú zodpovedné za prepravu cholesterolu
- Malé LDL podtriedy 3 až 7 predstavujú „zlé“ alebo „abnormálne“ LDL a sú ľahko okysličené a napomáhajú kardiovaskulárnym ochoreniam

- Normálne hodnoty LDL nie sú vždy relevantným identifikátorom nízkeho rizika kardiovaskulárnych ochorení
- Malé LDL podtriedy (3 až 7) môžu zobrazit' až 3-násobne vyššie riziko kardiovaskulárnych rizík aj pri normálnych úrovniach LDL

SYSTÉM LIPOPRINT® JE
JEDINÝ CE – CERTIFIKOVANÝ
DIAGNOSTICKÝ SYSTÉM TESTOVANIA LDL
SUBFRAKCIÍ

Úmysel:

Systém LipoPrint® LDL je určený pre **meranie cholesterolu lipoproteínov** (pre frakcie a subfrakcie lipoproteínov od VLDL do HDL) v pôstnom sére alebo plazme s koncentráciou celkového cholesterolu ≥ 100 mg/dl.

Systém LipoPrint® využíva ne-denaturovanú, lineárnu (bezvzostupovú) polyakrylamidovú gélovú elektroforézu (PAGE) pre separáciu lipoproteínových frakcií a subfrakcií v sére alebo plazme v závislosti od ich veľkosti.

Test využíva lipofilické farbivo, ktoré sa viaže na cholesterol v lipoproteínovej čiastočke pred elektroforézou.

Po elektroforéze sú gély zoskenované pre určenie relatívnej oblasti pre jednotlivé lipoproteínové subfrakcie. Subfrakcie cholesterolu sú vypočítané na základe násobku relatívnej oblasti každej subfrakcie a celkového cholesterolu vzorky.

Obsah systému:

- ↓ Komora
- ↓ Preparačný stojan
- ↓ Preparačné svetlo
- ↓ Zdroj napájania
- ↓ Digitálny skener
- ↓ iMac + softvér
- ↓ Tlačiareň



Sada reagencií LipoPrint®:

- ↓ Gélové trubičky
- ↓ Plniaci gél
- ↓ Ustáľovací roztok



- Musia byť použité len pôstne (12 hod) vzorky
- Musí byť použité len sérum alebo EDTA plazma
- Nepoužívajte heparín ako antikoagulát
- Vzorky môžeme uchovať až 7 dní pri teplote 2 - 8 °C

4 Kroky testu Lipoprint®:

- Elektroforéza
- Skenovanie
- Analýza
- Záznam

Plniaca vzorka

- Umiestnite gélové trubičky do stojana
- Aplikujte 25 µl séra alebo plazmy do gélovej trubičky
- Pridajte 200 µl plniaceho gélu



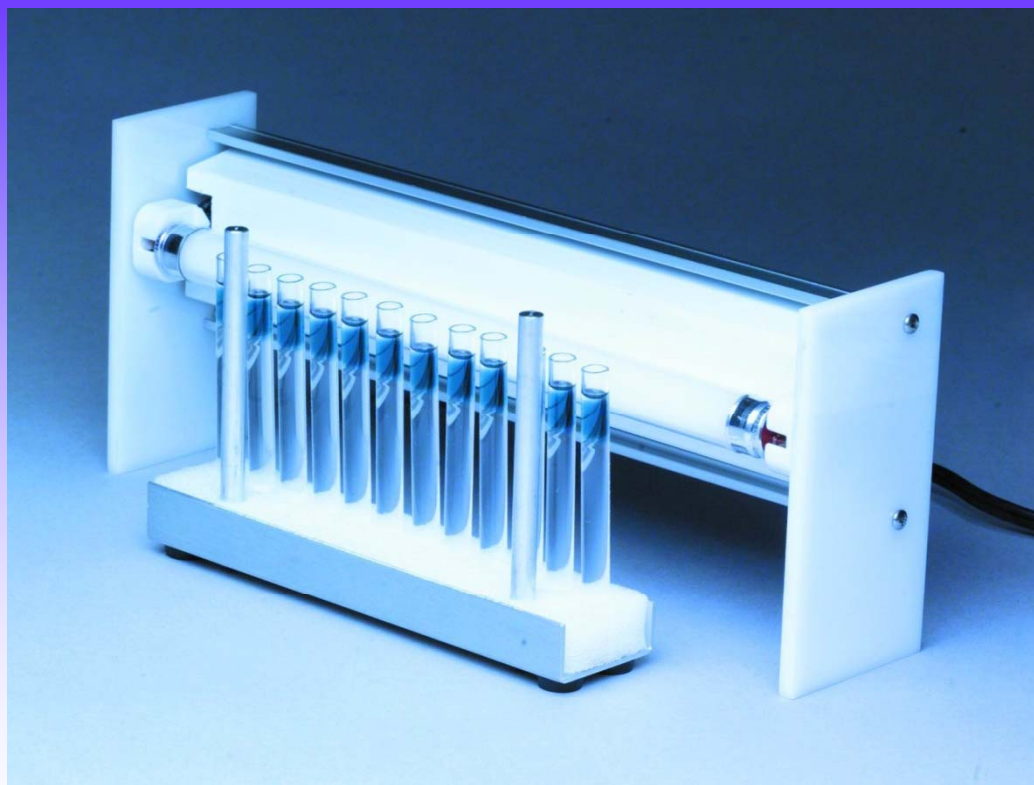
Miešanie vzoriek

- Prekryte gélové trubičky vrchným krytom
- Zamiešajte plniaci gél obrátením gélových trubičiek



Foto-polymerizácia

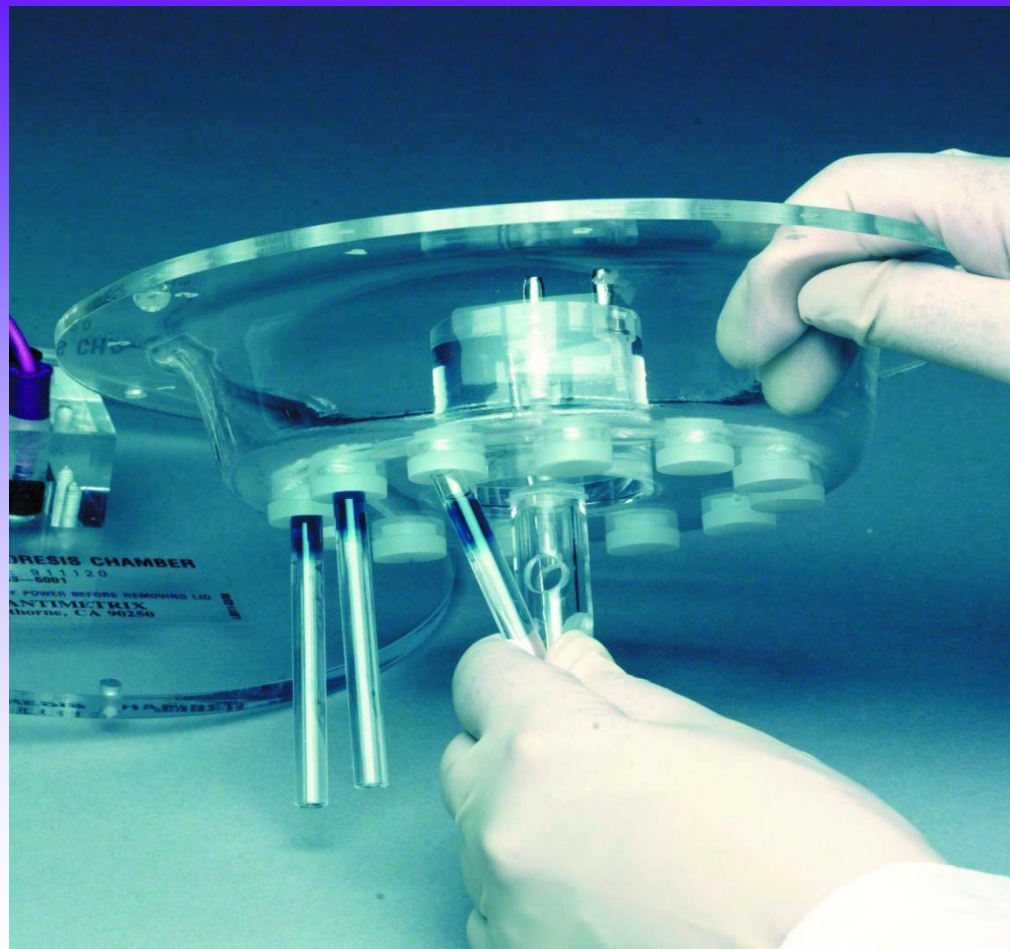
- Umiestnite gélovú trubičku pred preparačné svetlo
- Foto-polymerizujte trubičky po dobu 30 minút



Farba naviaže na lipoproteínové čiastočky

Plniaca komora

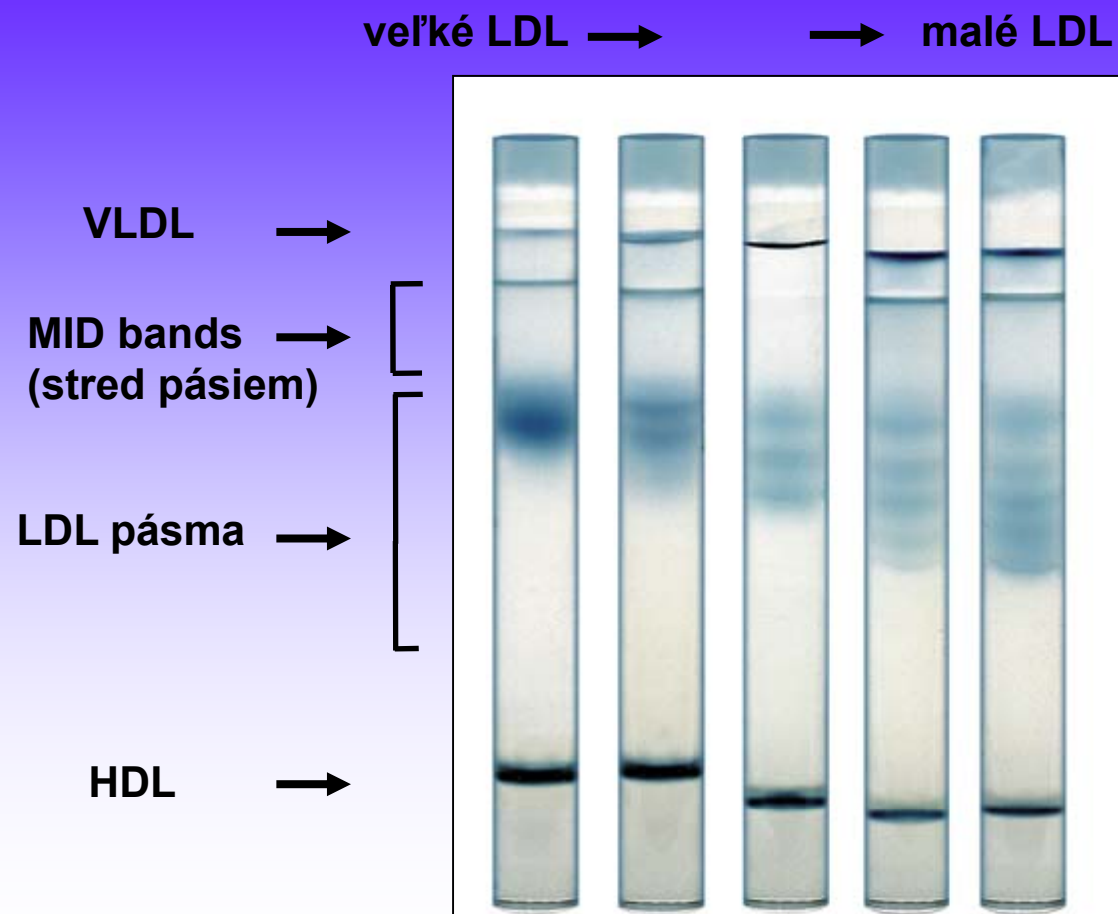
- Premiestnite gélové trubičky z preparačného stojana a vsuňte ich do hornej časti komory



Elektroforéza

- Pridajte tlmiaci roztok do vrchnej a spodnej časti komory
- Zapnite elektroforézu na 1 hodinu s 3 mA pre každú gélovú trubičku



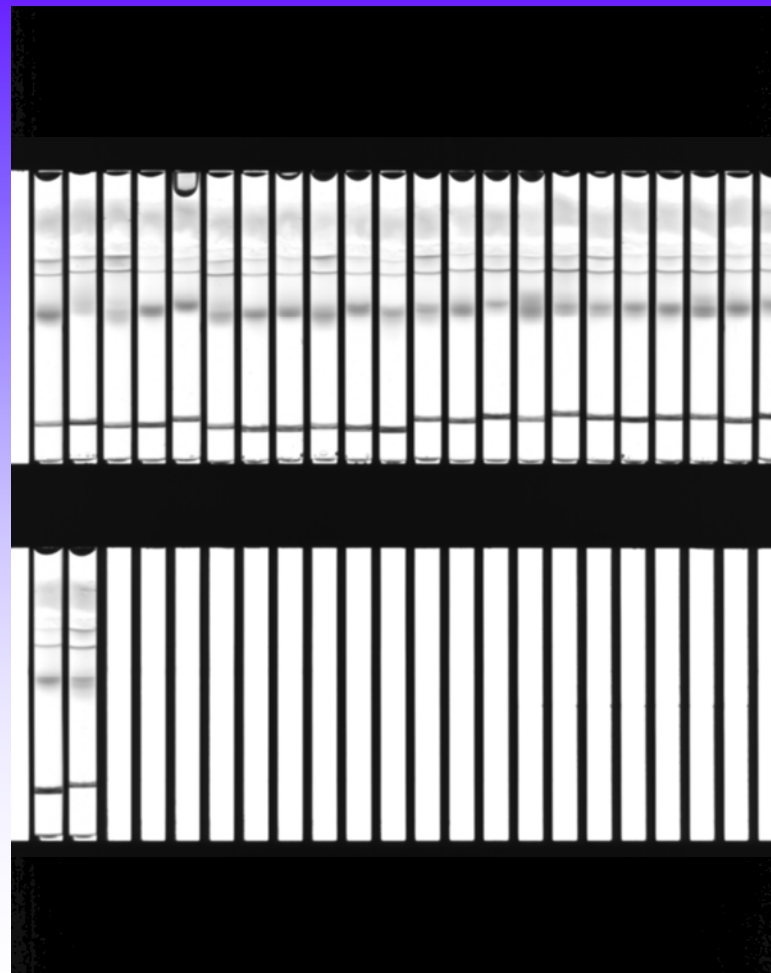


Skenovanie gélových trubičiek

- Po elektroforéze vložte gélové trubičky do skenera
- Skenujte gélové trubičky



Vyhotoví sa
digitalizovaný obrázok
gélových trubičiek po
elektroforéze



Automatická analýza pacientových výsledkov

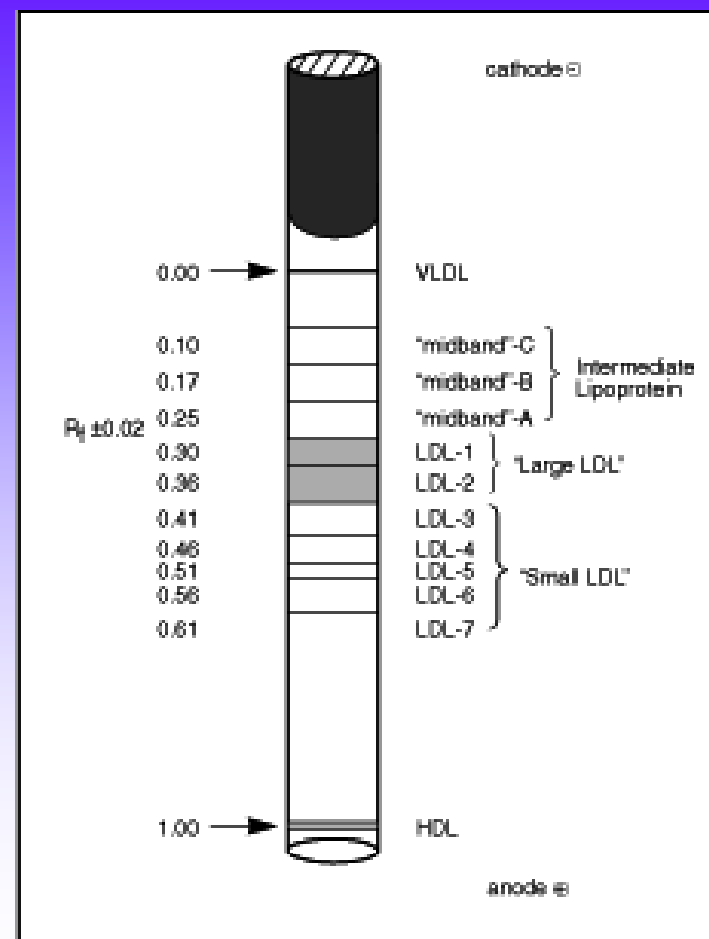
- Zadajte meno pacienta a jeho celkový cholesterol
- Spustíte analýzu skenovaných gélových trubičiek
- Vytvoríte pacientov profil
- Vytlačíte pacientov profil



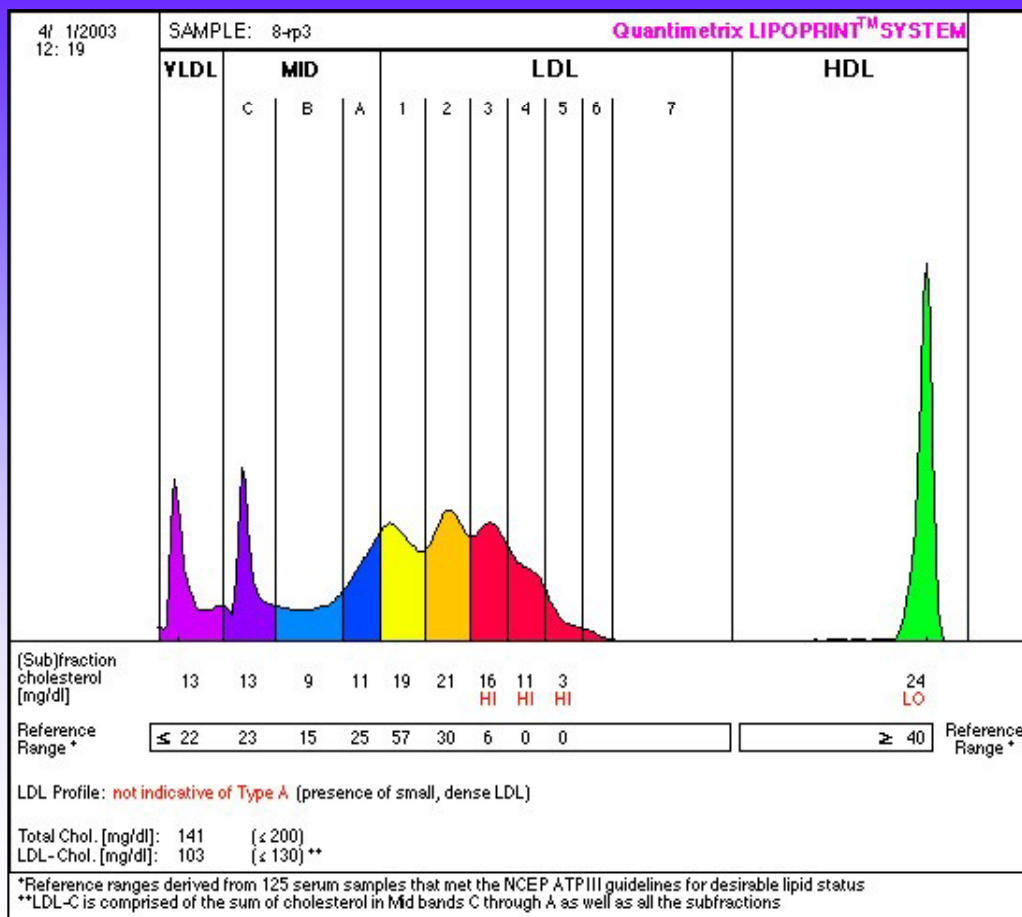
Je analyzovaných až 12 pásiem podľa veľkosti (1 VLDL, 3 Mid Bands (stredno-pásma), 7 LDL pásiem a 1 HDL pásmo)

VLDL migruje na vrchu gélového oddeľovača $R_f = 0$ a HDL migruje do prednej časti $R_f = 1$

Stredno-pásmové a LDL subfrakcie migrujú za špecifických hodnôt medzi VLDL a HDL



Je vyhotovený a
vytlačený jednoduše
interpretovatelný graf
lipoproteinového profilu
pacienta



VYHOTOVENIE TABUĽKY VÝSLEDKOV TESTU

LIPOPRINT®

Spustite analýzu skenovaných trubičiek

- Analýza vzoriek softvérom LipoWare
- Kalkuluje percentuálnu oblasť pre každú zo subfrakcií
- Kalkuluje množstvo cholesterolu v každej subfrakcii
- Vytvorí tabuľku so všetkými výsledkami

Grab File Edit Capture Window Help										
untitled										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
2	Sample	VLDL	IDL-C	IDL-B	IDL-A	LDL-1	LDL-2	LDL-3	LDL-4	LDL-5
3										
4	tube 1	10.2	9.5	6.3	8.6	23.5	13.9	0	0	
5										
6	tube 2	10	10	6.7	9	23.7	12.9	0	0	
7										
8	tube 3	15.5	10.2	10	7.2	13.3	17	3.8	0	
9										
10	tube 4	17.4	8.2	14.3	12.9	19.8	5	0	0	
11										
12	tube 5	6.3	9.5	9.4	14.1	25.6	11.6	0	0	
13										
14	tube 6	6.2	9.1	9.1	13.5	25.2	12.1	0	0	
15										
16	tube 7	10.1	14.2	8.8	7.4	14.3	15.5	9.2	1.4	
17										
18	tube 8	8.9	12.7	8.2	7.6	14.2	15.3	10.6	3.4	
19										
20	tube 9	30.7	5.8	10.5	3.7	6.6	7.7	5.2	5.3	
21										
22	tube 10	4.9	15.5	9.8	6.1	10.8	9.1	6.8	7.4	
23										
24	tube 11	9.6	13.1	7	5.7	11	8.8	7.2	7.7	
25										
26	tube 12	10.2	12.6	6.8	5.4	11.4	9.5	7.6	8	
27										
28										

VÝKLAD PROFILU

System LipoPrint® vyhotoví jednoducho interpretovateľný,
„farebne roztriedený“ profil pacienta, uvádzajúci
distribúciu lipoproteínových subfrakcií, hladiny
cholesterolu každej frakcie a porovnanie so vzorkou s
NORMÁLNYM referenčným rozsahom.

NORMÁLNY PROFIL TYPU A

LIPOPRINT®

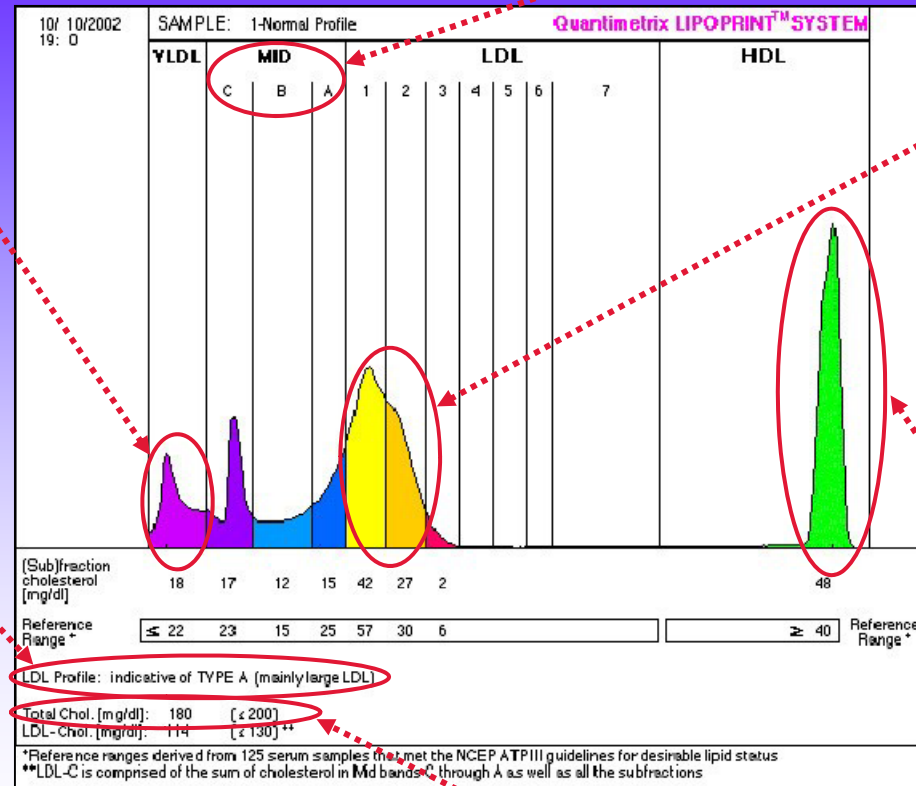
VLDL: Primárne lipoproteín bohatý na triglyceridy.

Mid Band C, B, A: Intermediate density lipoprotein (IDL)

Fenotyp: Type A (žiadúci)

LDL subfrakcie 1 a 2: Nájdateľné takmer vo všetkých ľudských sérach, veľké čiastočky, vzostupný LDL (Žltá)

HDL ten Dobrý Cholesterol (Zelená)



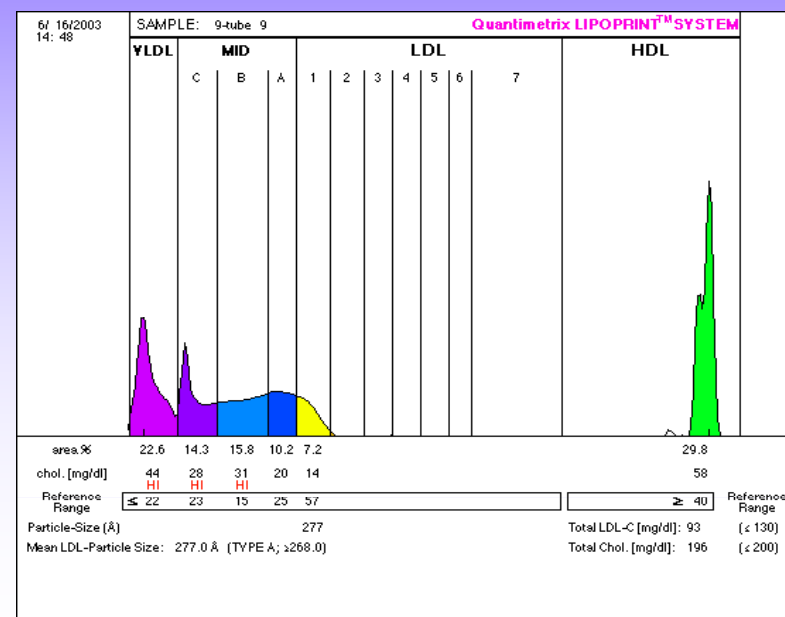
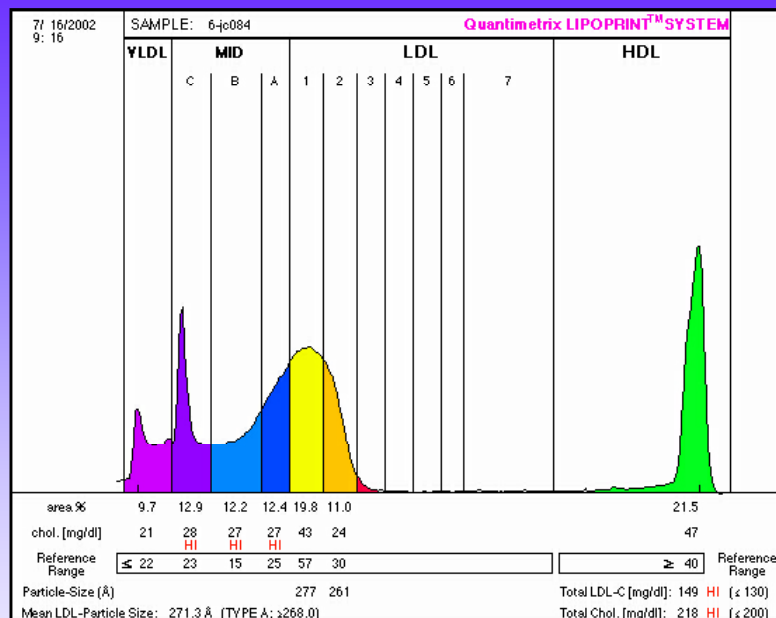
Celkový cholesterol: Meraný nezávisle

Lipoproteíny obohatené triglyceridmi

- Ostatky chylomikrónov
- Ostatky VLDL
- Stredne Husté Lipoproteíny (IDL)

TYP III DYSLIPIDEMIAS (ZVÝŠENÉ IDL)

LIPOPRINT®

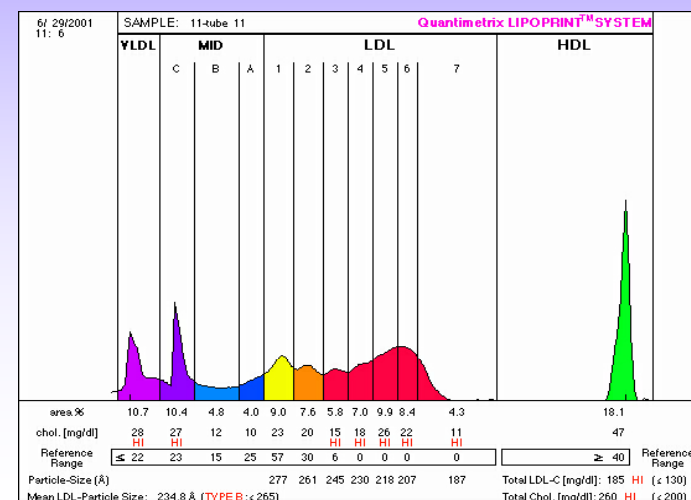
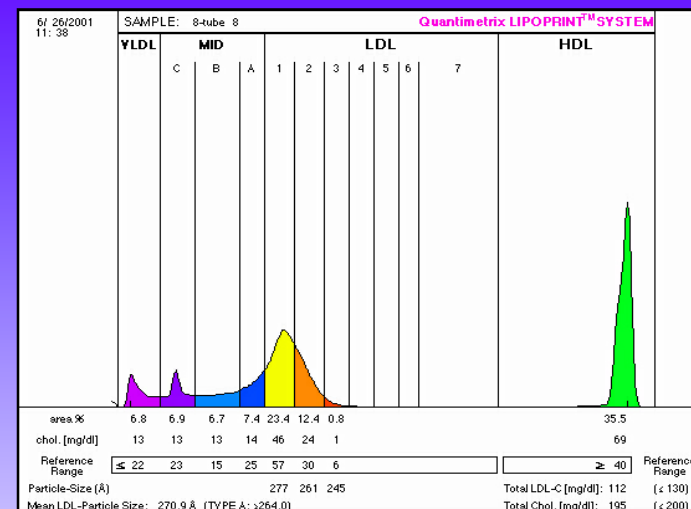


- Jediný CE – certifikovaný diagnostický systém pre separáciu a meranie lipoproteínových frakcií a subfrakcií
- Meria cholesterol (mg/dL) vo všetkých 12-tich lipoproteínových frakcií a subfrakcií
 - VLDL - spojená s hypertriglyceridémiou
 - Mid A, B, a C (ostatky IDL a VLDL) zvýšené riziko kardiovaskulárnych ochorení
 - LDL 1 a 2 – spojená s hypercholesterolémiou
 - LDL 3 až 7 – spojené s 3-násobným zvýšením rizika kardiovaskulárnych ochorení
 - HDL - dobrý cholesterol
 - LDL - zlý cholesterol

- Normálne referenčné hodnoty sú založené na údajoch z Národného Cholesterolového Edukačného Programu ATP III (NCEP ATP III)
- Hodnoty cholesterolu mimo normálneho referenčného rámca sú označené červenou pre ľahšiu interpretáciu
- Farebne roztriedený profil pre jednoduchší výklad pacientov a lekárov
- Klasifikácia Lipoproteínového Profilu – prevládanie veľkých LDL je klasifikované ako Typ A a prevládanie malých denzných LDL je klasifikovaný ako Neindikatívny Typ A
- Test je presný, jednoduchý, s rýchlou spätnou väzbou a môže byť vykonaný v každom laboratóriu

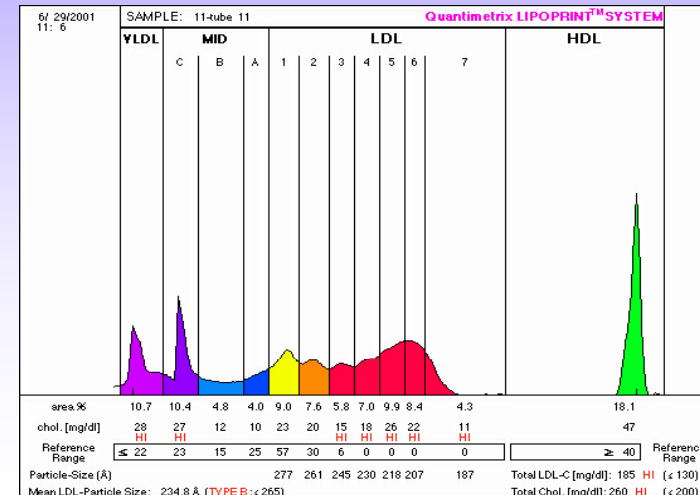
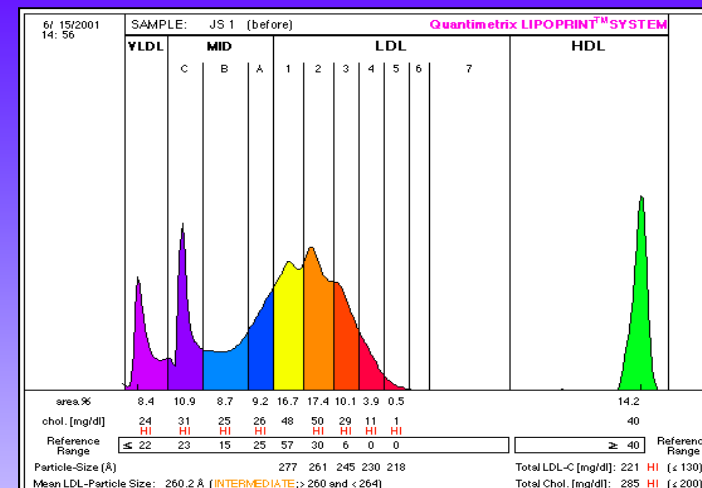
PREČO MERAŤ LDL SUBFRAKCIE?

- Testovanie LDL subfrakcií vyjadruje úrovne rizík kardiovaskulárnych ochorení, ktoré nemôžeme získať s použitím konvenčných profilov lipidov
- Toto riziko môže byť zobrazené aj pri normálnych úrovniach lipidov



Rôzne profily vyžadujú rôznu liečbu

- Statíny redukujú hladinu celkového cholesterolu a počet lipoproteínových častí
- Niacínové vlákna menia distribúciu častí od malých aterogénnych do veľkých menej aterogénnych
- Kombinovaná terapia
- Rovnako je vhodná aj terapia diétou – zmena životosprávy

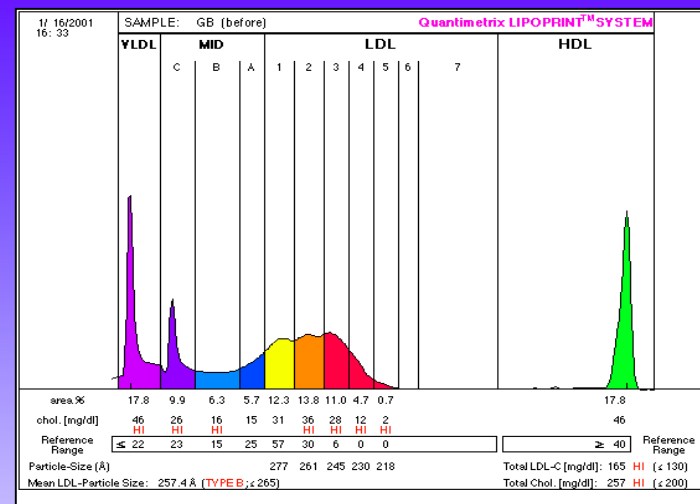


Drug Class	Generic Name	Brand Name	Dose Range (mg/d)
Nicotinic acid (niacin)	Nicotinic acid	Niaspan	500-2,000
HMG-CoA reductase inhibitors (statins)	Atorvastatin	Lipitor	10-80
	Simvastatin	Zocor	5-80
	Lovastatin	Mevacor	10-80
	Pravastatin	Pravachol	10-80
	Fluvastatin	Lescol	20-80
	Rosuvastatin	Crestor	5-40
Bile acid sequestrants	Cholestyramine	Questran	4-24 grams
		Questran Light	
	Colesevelam	WelChol	
	Colestipol	Colestid	2-16 grams in divided doses
Fibric acid derivatives	Gemfibrozil	Lopid	
	Fenofibrate	Tricor	1,200 in divided dose 54-145
Combination	Niacin (extended release)-lovastatin	Advicor	500/20
	Ezetimibe-simvastatin	Vytorin	10/10-10/80
Cholesterol absorption inhibitors	Ezetimibe	Zetia	10

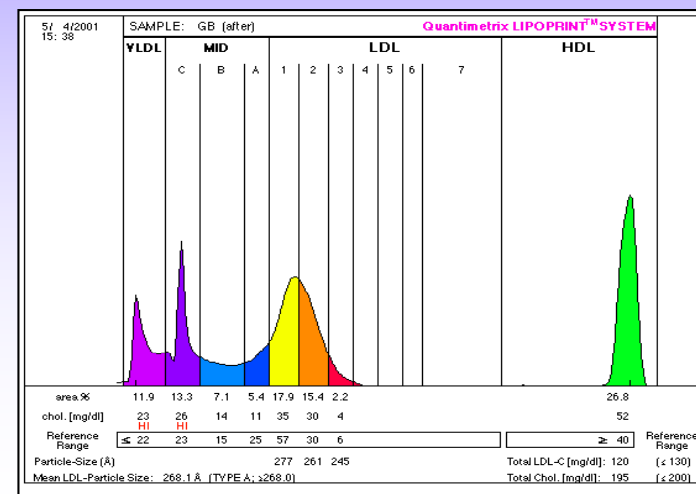
Adapted from: Nurse Practitioner's Drug Handbook, 4th Ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, & Wilkins, 2002.

Pomôžte lekárom a pacientom
monitorovať efektivitu liečby
postupom času

Pred liečbou



Po liečbe

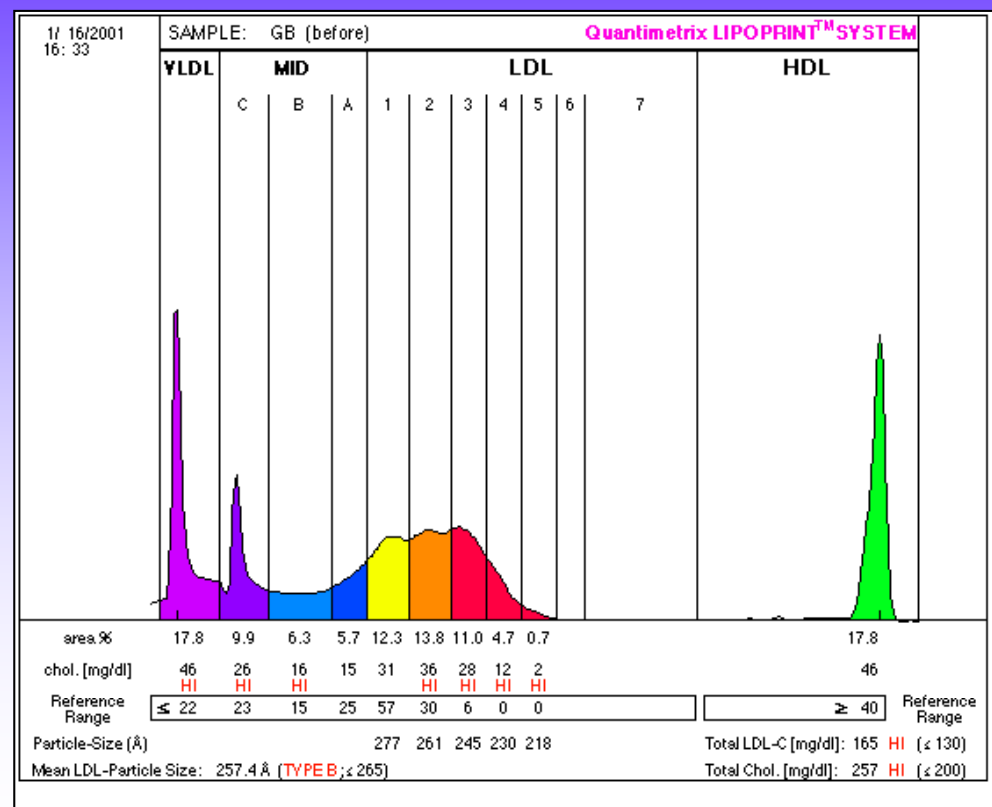


Prípadové štúdie

PACIENT 1

LIPOPRINT®

Pacient - 65 ročný muž kaukajskej rasy. V Januári 2001 (Obr. 1) vykonaná prvá LipoPrint® analýza s výrazným zastúpením malých denzných LDL častíc (červená časť profilu analýzy), čo naznačuje závažnú poruchu v metabolizme a štruktúre lipoproteínov.

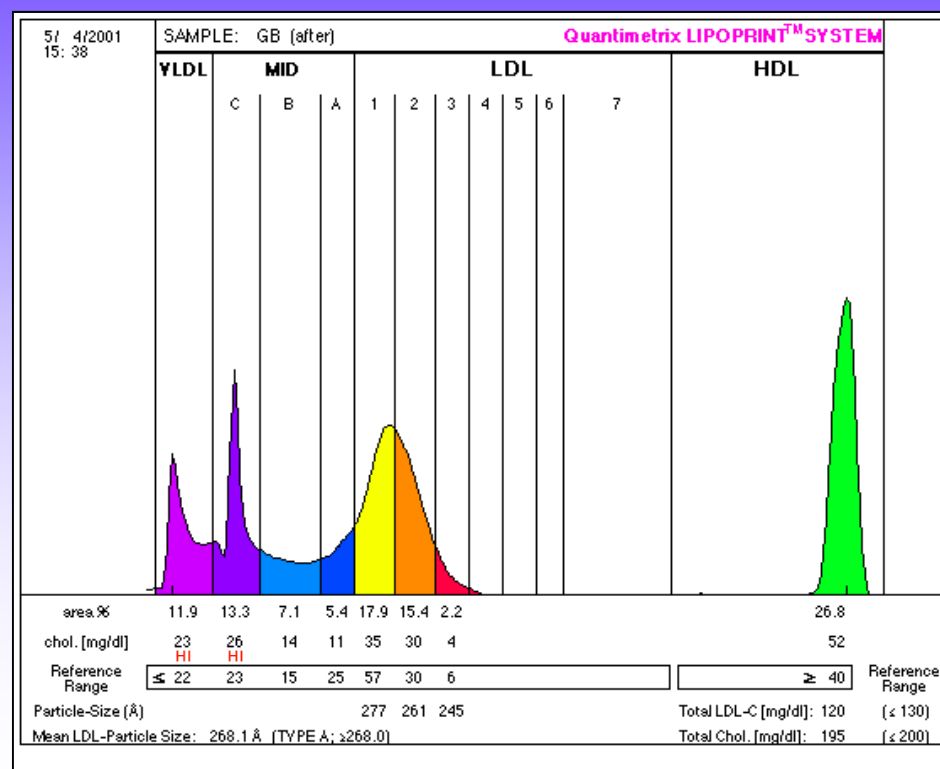


Obr. 1. Základný lipoproteínový profil pacienta z Veľkej Británie

PACIENT 1 (pokrač.)

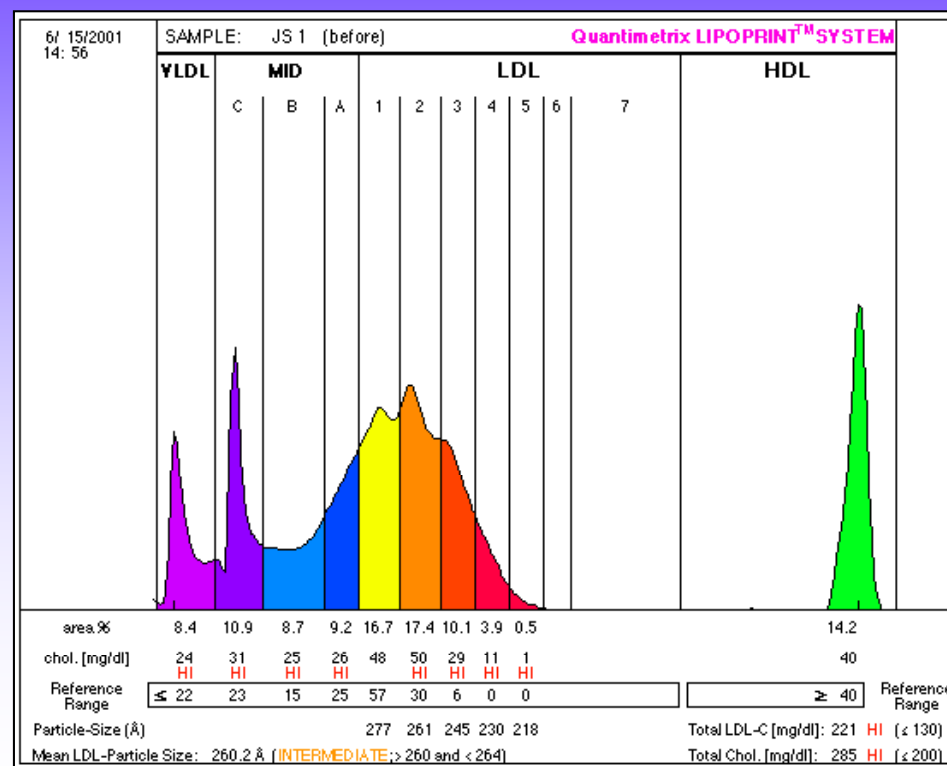
LIPOPRINT®

Po 3 mesiacoch liečenia niacínom (liečbu určil ošetrojúci lekár) kombinovanej so zmenami stravy (diéta) a zvýšenou fyzickou aktivitou sa lipoproteínový profil pacienta zásadne zlepšil (vid' obr. 2). Distribúcia lipoproteínov sa posunula do rozsahu referenčných hodnôt s pretrvávajúcim hranične zvýšených hodnôt VLDL- IDL1 cholesterolu.



Obr. 2. Profil pacienta z Veľkej Británie po 3-mesačnej liečbe

42 ročný muž testovaný v júni 2001. Pri prvej analýze možno pozorovať v lipoproteínovom spektre zvýšenú koncentráciu LDL 3-5, t.j. populácie malých denzných LDL (červená časť grafu, vid' obr. 3) čo potvrdzuje poruchu v štruktúre lipoproteínov.

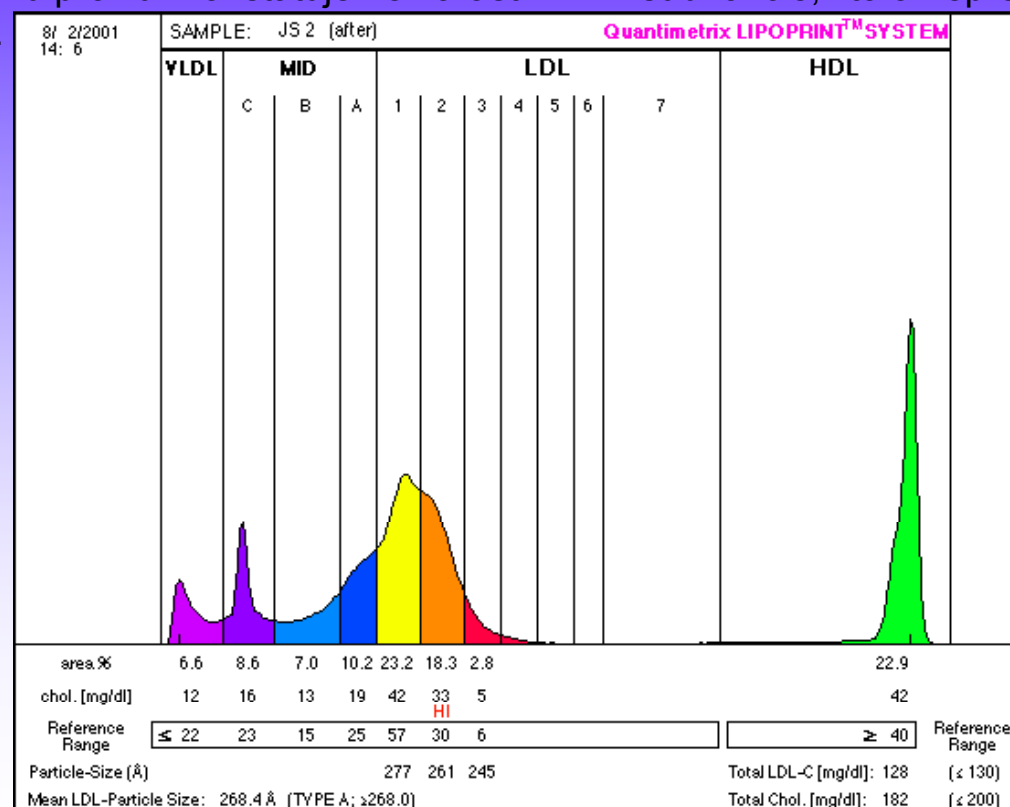


Obr. 3. Základný lipoproteínový profil pacienta z Indie

PACIENT 2 (pokrač.)

LIPOPRINT®

Po dvojmesačnej liečbe, spočívajúcej v zmene životného štýlu a dietetických návykov (vegetariánska diéta) s dôrazom na rastlinné proteíny sóje a zvýšenú fyzickú aktivitu, bola vykonaná druhá analýza. Konštatujeme zásadnú zmenu blížiacu sa normálnemu lipoproteínovému profilu. Konštatujeme nárast LDL-2 subfrakcie, ktorá nepredstavuje zvýšené riziko.

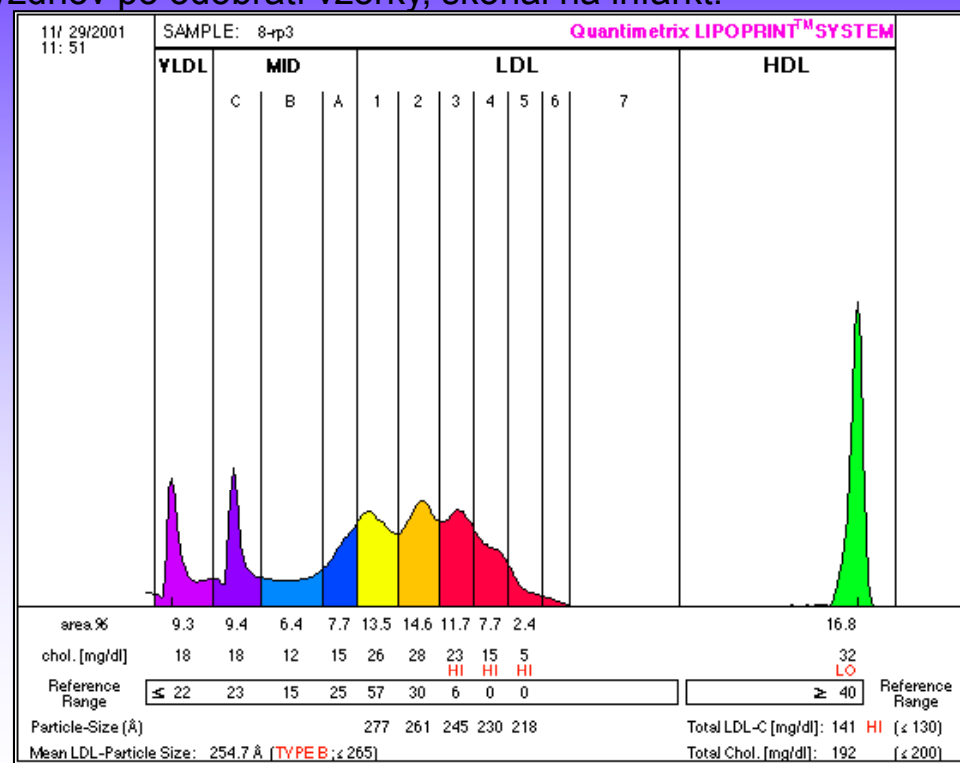


Obr. 4. Profil indického pacienta po 2-mesačnej diéte a cvičení

PACIENT 3

LIPOPRINT®

Nasledovný príklad profilu pacienta bol vytvorený v Novembri 2001. Pacientom je muž, hispánec, má 50 rokov, podľa všetkého zdravý a nefajčiar. Podľa grafu analýzy (obr. 15) je zrejmé, že pacient má vysokú pravdepodobnosť srdcovo-cievnych ochorení. Táto teória sa bohužiaľ potvrdila, pretože analýza nebola včasne vytvorená a pacient, 6 týždňov po odobratí vzorky, skončil na infarkt.



Obr. 5. Profil hispánskeho pacienta pred smrteľným srdcovým infarktom

PREČO SI MÁME NECHAŤ UROBIŤ PROFIL SYSTÉMU LIOPRINT®?

Každý s dvoma a viac nasledujúcimi rizikovými faktormi¹

- Zvýšený vek – až 84% ľudí, ktorí podľahnú srdcovo-cievny ochoreniam sú starší ako 65 rokov
- Pohlavie – Muži (45 rokov a starší) majú vyššie riziko srdcového infarktu ako ženy (55 rokov a staršie)
- Dedičnosť (zahrňuje všetky rasy populácie) – história v rodine predčasného ochorenia srdca (otec alebo brat postihnutý pred vekom 55 rokov; matka alebo sestra pred vekom 65 rokov)

- Fajčenie – fajčiari alebo nefajčiari vystavení cigaretovému dymu majú zvýšenú pravdepodobnosť srdcových chorôb
- Vysoký krvný Cholesterol² a Triglyceridy¹
 - Celkový krvný cholesterol (> 200 mg/ dL)
 - Vysoké LDL („zlý“) cholesterol (>100 mg/dL)
 - Nízke HDL („dobrý“) cholesterol (<40 mg/dL)
 - Triglyceridy (> 150 mg/dL)
- Vysoký krvný tlak³
Krvný tlak 140/90 mmHg alebo vyšší
- Fyzická nečinnosť – sedavý spôsob života, nedostatok fyzickej aktivity

- Obezita alebo Nadváha²
 - Nadváha = Body Mass Index (BMI) of > 25-29.9
 - Obezita = BMI 30 alebo vyššie
- Diabetes Mellitus
- Nadmerná konzumácia alkoholu
- Stres

¹<http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4726>

²<http://nhlbisupport.com/chd1/chdexp1.htm>

³<http://www.nhlbi.nih.gov/hbp/hbp/whathbp.htm>

**KTO BY MAL POSKYTOVAŤ SLUŽBY PROFILOV
SYSTÉMU LIOPRINT®?**

- | | |
|-----------------------------------|---|
| • Kardiológovia | Sledovanie liečby a efektívnosť intervencie |
| • Endokrinológovia | Preventívna terapia a monitorovanie diabetikov Typ II |
| • Internisti | Identifikácia, určenie liečby a monitorovanie pacientov |
| • Preventívna medicína | Prevencia CAD alebo súvisiacich komplikácií |
| • Rodinní/Všeobecní lekári | Preventívne monitorovanie |
| • Wellness centrá | Zdravotné poradenstvo |
| • Výskumné centrá | Klinické a farmaceutické |

LIPOPRINT® ZHRNUTIE

- Až 12 relevantných lipoproteínových frakcií a subfrakcií
- Koncentrácia cholesterolu pre všetky frakcie
- NCEP (ATP III) získané štandardné referenčné rozsahy
- Kvantifikácia aterogénnych IDL subfrakcií cholesterolu (Strednopásma)
- Automatická klasifikácia vzoriek
- Užívateľsky priateľská vizualizácia profilu

- Dobrá korekcia s Ultracentrifugáciou (β -Quant) a GGE
- Výborná korelácia s stanovenými HDL-C a LDL-C metódami
- Vynikajúca intra- a inter-laboratórna presnosť
- Špičková intra- a inter-rozborová správnosť merania

COMPETITIVE ANALYSIS

COMPONENT	Lipoprint®	Berkeley	VAP	NMR
TEST METHOD	Polyacrylamide Gel Electrophoresis	Gradient Gel Electrophoresis	Density Gradient Ultracentrifugation	Nuclear Magnetic Resonance
RESOLUTION	Physical and measurable separation of lipoprotein subfraction	Physical, non-measurable separation of LDL proteins only	Mathematical deconvolution of aggregate bands	Mathematical deconvolution of aggregate NMR signal
FDA CLEARED	YES	NO	NO	NO
NORMAL REFERENCE RANGE FOR SUBCLASSES	Yes (quantitative based on ATP III guidelines)	NO	Qualitative Classification only (based on population distribution)	Qualitative Classification only (based on population distribution)
NUMBER OF LDL FRACTIONS	7	7	Pattern A, AB or B	3
NUMBER OF IDL FRACTIONS	3	Does not report IDL	1 (IDL & VLDL-3)	1 (total IDL)
NUMBER OF VLDL FRACTIONS	1 (total VLDL)	Does not report VLDL	2	4
QUANTITATIVE ANALYSIS	Cholesterol mg/dL	LDL-peak particle size	No	Particle Number

SIGNIFICANCE:

Test Method: PAGE is a fast, easy, accurate method for protein separation. This allows the physician to receive the test results in a timely manner and translates into savings, as the test is not as costly as other methods.

Resolution: PAGE is the only method that physically separates all the proteins resulting in an accurate measurement of the bands, not estimated from a calculation.

FDA cleared: Lipoprint is the only FDA cleared test for LDL subfraction testing.

Normal Reference Ranges: Excellent for patient education and monitoring of therapy. Patient involvement results in better compliance with therapy.

Number of LDL Fractions: Researchers have identified 7 LDL subfractions. It has been shown that subfractions 3-7 are correlated with 3 times greater risk for CAD.

Number of IDL Fractions: Research has shown a significant correlation between IDL and CAD.

Quantitative Analysis: Shows measurable concentrations of each subfraction. Other profiles indicate only where the cholesterol concentration is the highest. This allows the physician to see measurable changes in each subfraction to determine if treatment

PRICHÁDZA ČOSKORO!!!

LIPOPRINT® HDL

Schopný identifikácie až 10 subfrakcií

Veľké HDL (subfrakcie 1 až 3)

Stredné HDL (subfrakcie 4 až 7)

Malé HDL (subfrakcie 8 až 10)

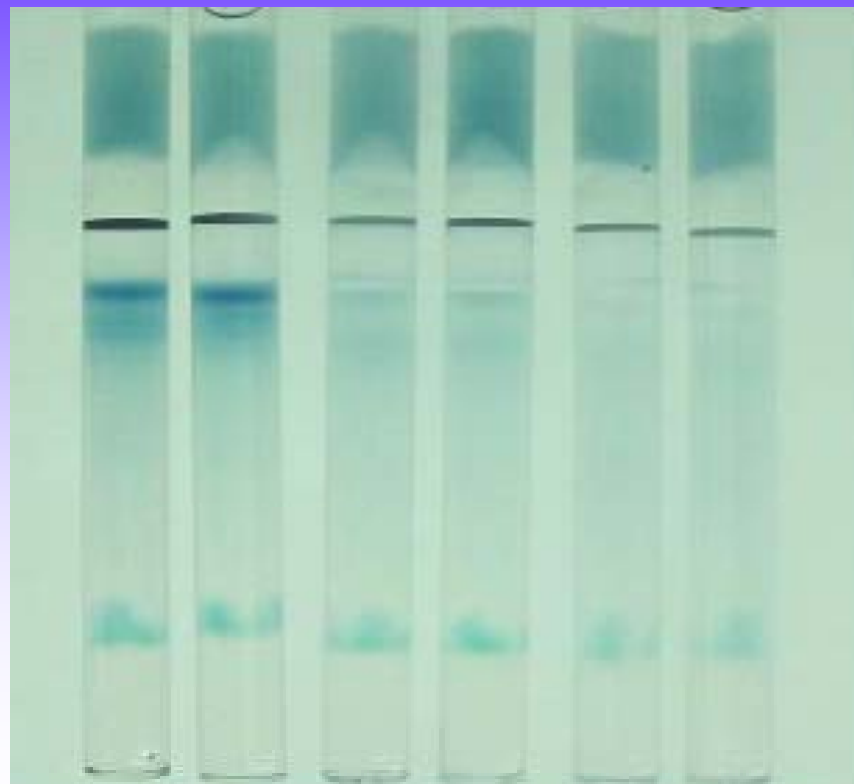
VLDL/LDL ----->

Veľké HDL ----->

Stredné HDL -->

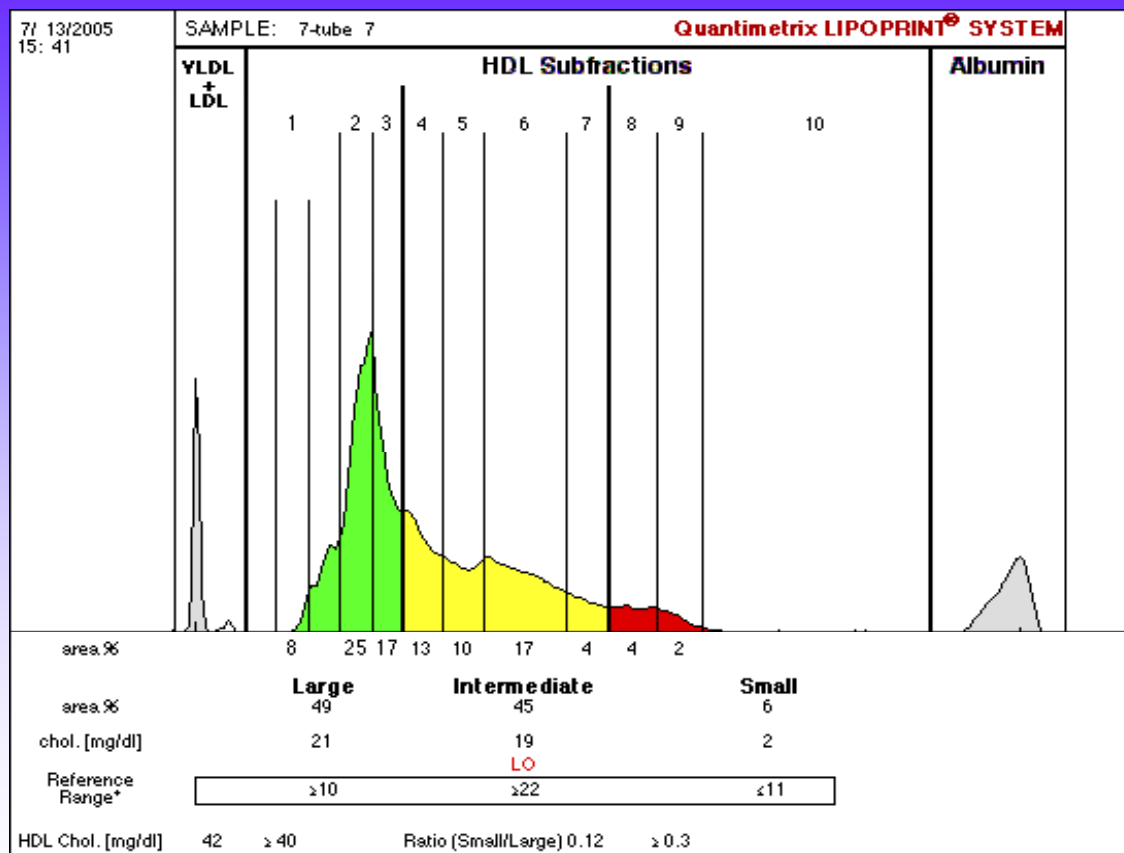
Malé HDL ----->

Albumín ----->



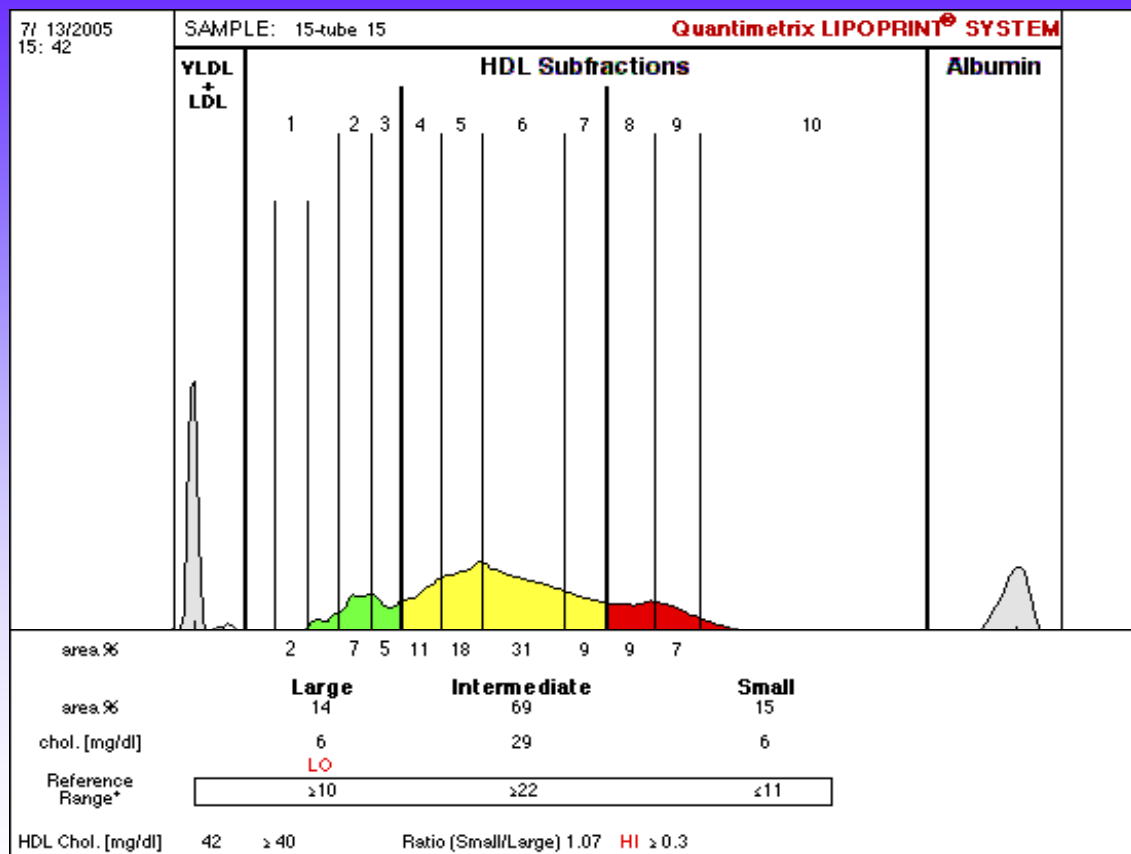
Primárne veľké HDL čiastočky

LIPOPRINT®



Primárne stredné HDL čiastočky

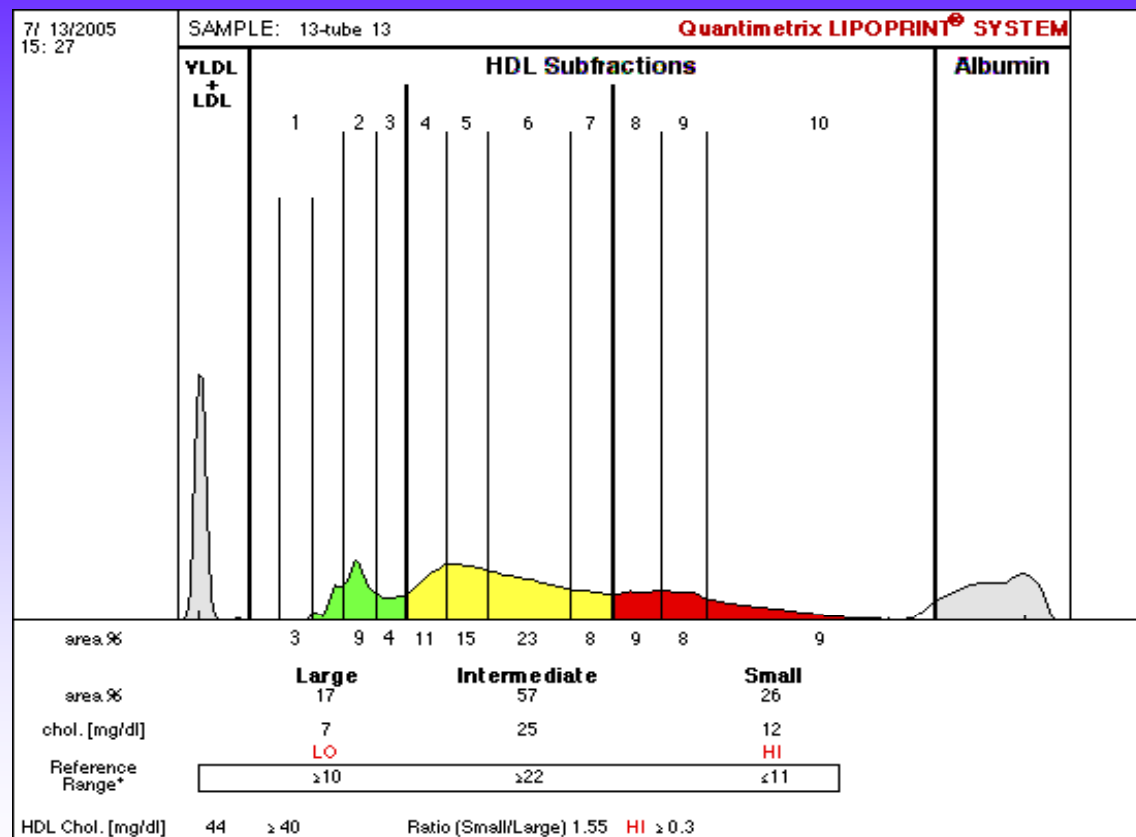
LIPOPRINT®



*Reference ranges derived from 123 serum samples that met the NCEP ATP III guidelines for desirable lipid status

Primárne malé HDL čiastočky

LIPOPRINT®



*Reference ranges derived from 123 serum samples that met the NCEP ATP III guidelines for desirable lipid status

ŠTÚDIE LIOPRINT®

System LipoPrint® bol použitý pri štúdiách určujúcich riziká kardiovaskulárnych ochorení, štúdiách liekov znižujúcich lipidy, štúdiách výkonnosti človeka, štúdiách lipidov laboratórnych zvierat, atď.

Koniec prezentácie