Lipoprint®
LDL Subfractions Kit

Quantimetrix

REF 48-7002 IVD CE EC REP MDSS Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany 2° C – 8° C

Quantimetrix Corporation 2005 Manhattan Beach Blvd. Redondo Beach, CA 90278 +1.310.536.0006

ελληνικά

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΚΑΙ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ

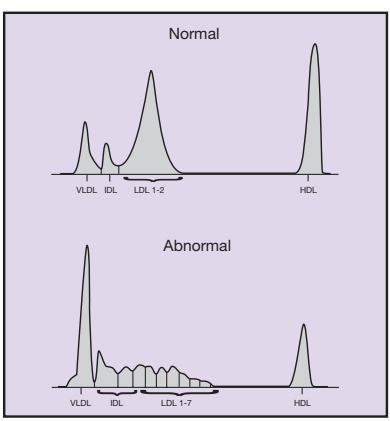
Το Κιτ Συστήματος Lipoprint Υποκλασμάτων LDL της Quantimetrix “Κιτ Lipoprint LDL”, είναι μια συσκευή που προορίζεται για τη μέτρηση της χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών (για κλάσματα και υποκλάσματα λιποπρωτεϊνών από VLDL έως HDL) σε ορό ή πλάσμα νηστείας σε συγκέντρωση Ολικής Χοληστερόλης >100 mg/dL. Οι μετρήσεις χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών, σε συνδυασμό με άλλες δοκιμασίες λιπιδίων, εκτίμηση κινδύνου του ασθενούς και κλινική αξιολόγηση, χρησιμοποιούνται ως βοήθεια για την αξιολόγηση των διαταραχών μεταβολισμού των λιπιδίων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος είναι σφαιρικά σωματίδια υπεύθυνα για τη μεταφορά της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και των φωσφολιπιδίων. Υπάρχουν πέντε κύριες τάξεις λιποπρωτεϊνών: Τα χυλομικρά, η λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL), η λιποπρωτεΐνη ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL), η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL). Η χαμηλή χοληστερόλη HDL είναι ισχυρός ανεξάρτητος δείκτης πρόβλεψης της στεφανιαίας καρδιοπάθειας (CHD) [1]. Η αυξημένη χοληστερόλη LDL (LDL–C) έχει αναγνωριστεί ως ο κύριος παράγοντας κινδύνου για CHD [2]. Είναι γνωστό ότι οι τάξεις των λιποπρωτεϊνών είναι ετερογενείς, αποτελούμενες από πολλά υποκλάσματα τα οποία ποικίλουν ως προς το μέγεθος των σωματιδίων, την πυκνότητα και τη χημική σύσταση. Η ετερογένεια των λιποπρωτεϊνών έχει καταδειχθεί με διάφορες αναλυτικές μεθόδους όπως υπερφυγοκέντρηση σε βαθμωτό (gradient) πυκνότητας [3], πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (NMR) [4], μη αποδιατακτική ηλεκτροφόρηση σε βαθμωτό πήκτωμα (GGE) [5] και Σύστημα Lipoprint, ένα γραμμικό σύστημα ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου [6].

Η LDL μπορεί να αναλυθεί με το σύστημα Lipoprint σε έως επτά υποκλάσματα LDL. Τα υποκλάσματα LDL έχουν ονομαστεί από LDL–1, που αποτελείται από τα μεγαλύτερα σωματίδια, μέχρι LDL–7, που αποτελείται από τα μικρότερα σωματίδια.

Για το βαθμό ετερογένειας των LDL ανάμεσα σε διαφορετικά άτομα ευθύνονται γενετικοί αλλά και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Η ηλικία, το φύλο και η κατάσταση των λιπιδίων είναι γνωστό ότι επηρεάζουν το προφίλ των υποκλασμάτων LDL [7]. Άτομα που εμφανίζουν προφίλ λιποπρωτεϊνών αποτελούμενα κυρίως από τα μεγαλύτερα, ελαφρά υποκλάσματα LDL–1 και LDL–2, έχουν καθοριστεί ως **Πρότυπο Α** ενώ τα προφίλ στα οποία κυριαρχούν μικρότερα και πυκνότερα υποκλάσματα (LDL–3 έως LDL–7) έχουν καθοριστεί ως **Πρότυπο Β** [5]. (Εικ. 1)



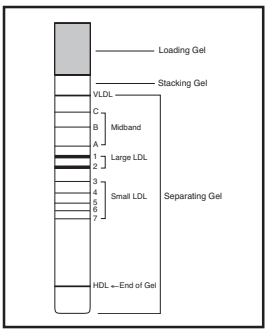
Εικόνα 1. Φυσιολογικό (Πρότυπο Α) και μη φυσιολογικό (Πρότυπο Β) προφίλ λιποπρωτεϊνών

Σε μια μελέτη 109 ασθενών με έμφραγμα μυοκαρδίου (MI) οι Austin και συν. [5] έδειξαν ότι το υποκλάσμα LDL του Προτύπου B συνδέεται με τριπλάσιο κίνδυνο για MI, ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία και το σχετικό βάρος. Ο Krauss [8] ανέφερε παρόμοια αποτελέσματα. Οι Rajman και συν. [6] αναφέρονται επίσης στον παράγοντα κινδύνου που συνδέεται με υποκλάσματα λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας σε άνδρες με φυσιολογικά επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα.

ΑΡΧΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Το κιτ Lipoprint LDL αποτελείται από:

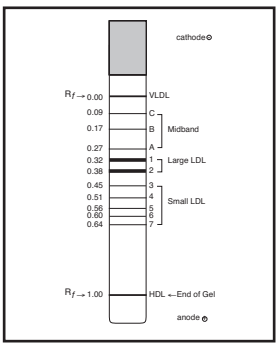
- Προκατασκευασμένο γραμμικό πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου (πήκτωμα συσσώρευσης και πήκτωμα διαχωρισμού) σε γυάλινο σωλήνα (Εικ. 2)
- Υγρό πήκτωμα φόρτωσης με λιπόφιλη χρωστική
- Άλατα ρυθμιστικού διαλύματος



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση σωλήνα πηκτώματος Lipoprint

Η χρωστική δεσμεύεται ανάλογα με τη σχετική ποσότητα χοληστερόλης σε κάθε λιποπρωτεΐνη [9]. Οι προχρωματισμένες λιποπρωτεΐνες υποβάλλονται στη συνέχεια σε ηλεκτροφόρηση. Κατά την πρώτη φάση της ηλεκτροφόρησης, τα σωματίδια λιποπρωτεΐνης με το πήκτωμα φόρτωσης και το πήκτωμα συσσώρευσης συγκεντρώνονται σε μια καλά καθορισμένη στενή ζώνη. Καθώς τα σωματίδια λιποπρωτεΐνης μετακινούνται μέσω του υλικού του διαχωριστικού πηκτώματος, αναλύονται σε ζώνες λιποπρωτεϊνών σύμφωνα με το μέγεθος των σωματιδίων τους από τα μεγαλύτερα προς τα μικρότερα λόγω της διηθητικής δράσης του πηκτώματος: Τα HDL μετακινούνται ταχύτερα, ενώ ακολουθούν τα μικρά–πυκνά LDL, τα μεγαλύτερα–ελαφρά LDL, οι ενδιάμεσες ζώνες (αποτελούνται κυρίως από IDL) και τα VLDL. Τα χυλομικρά, αν υπάρχουν, εμφανίζονται πάνω από το πήκτωμα συσσώρευσης ή παραμένουν στο πήκτωμα φόρτωσης.

Ένα τυπικό προφίλ Lipoprint αποτελείται από 1 ζώνη VLDL, 3 ενδιάμεσες ζώνες, μέχρι 7 ζώνες LDL και 1 ζώνη HDL. Μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφόρησης, τα διάφορα χρωματισμένα κλάσματα λιποπρωτεϊνών (ζώνες) που υπάρχουν στο δείγμα αναγνωρίζονται από την κινητικότητά τους (Rf) χρησιμοποιώντας το VLDL ως εναρκτήριο σημείο αναφοράς (VLDL = 0) και το HDL ως προπορευόμενο σημείο αναφοράς (HDL = 1). (Εικ. 3)



Εικόνα 3. Κινητικότητα των ζωνών λιποπρωτεϊνών

Το σχετικό εμβαδόν κάθε ζώνης λιποπρωτεϊνών καθορίζεται και πολλαπλασιάζεται με τη συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης του δείγματος ώστε να προκύψει η ποσότητα χοληστερόλης σε κάθε ζώνη σε mg/dL. Η συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης του δείγματος πρέπει να μετρηθεί ανεξάρτητα, π.χ. σε ένα κλινικό αναλυτή ή φορητό όργανο.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

Το κιτ Lipoprint LDL αποτελείται από προκατασκευασμένους σωλήνες πηκτώματος πολυακρυλαμιδίου υψηλής ανάλυσης, ένα διάλυμα πηκτώματος φόρτωσης που περιέχει λιπόφιλη χρωστική, και άλατα ρυθμιστικού διαλύματος.

Αντιδραστήρια και Υλικά (Παρέχονται, Βλ. Αρ. Καταλόγου Quantimetrix 48-7002)
Το κιτ 100 εξετάσεων αποτελείται από:

1. Σωλήνες Πηκτώματος Lipoprint LDL — 100 σωλήνες
   Πολυακρυλαμίδιο, Ρυθμιστικό διάλυμα, Συντηρητικό
2. Πήκτωμα Φόρτωσης Lipoprint LDL — 24 mL
   Ακρυλαμίδιο
   N, N-μεθυλενοδισακρυλαμίδιο
   Λιπόφιλη χρωστική
   Καταλύτη
   Σταθεροποιητή
   Ρυθμιστικό διάλυμα
3. Άλατα Ρυθμιστικού Διαλύματος Lipoprint LDL — 6 φιαλίδια
   Τρις (υδροξυμεθυλ) αμινομεθάνιο
   Βορικό οξύ
4. Ένθετο προϊόντος Lipoprint LDL — 1 το καθένα

Σύστημα Lipoprint (Δεν παρέχεται, Βλ. Αρ. Καταλόγου Quantimetrix 48-9150/9152)

1. Ηλεκτρονικός υπολογιστής (περιλαμβάνει Πρόγραμμα Ανάλυσης Lipoware)
2. Έγχρωμος εκτυπωτής
3. Ψηφιακός σαρωτής
4. Θάλαμος ηλεκτροφόρησης
5. Τροφοδοτικό (120V/220V)
6. Στατήρας προετοιμασίας
7. Λυχνία προετοιμασίας
8. Εργαλείο περιθωρίου

Liposure - Μάρτυρας Λιποπρωτεΐνης (Δεν παρέχεται, Βλ. Αρ. Καταλόγου Quantimetrix 48-7060-Επίπεδο 1)

Υλικά που Απαιτούνται (Δεν παρέχονται)

1. Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
2. Αυτόματη πιπέτα 25 μL
3. Αυτόματη πιπέτα 200 μL
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Parafilm™
6. Ογκομετρικοί κύλινδροι

Ανασύσταση αντιδραστηρίων

Η ανασύσταση του ρυθμιστικού διαλύματος ηλεκτρολυτών πραγματοποιείται διαλύοντας ένα φιαλίδιο αλάτων ρυθμιστικού διαλύματος του Κιτ Lipoprint LDL σε 1200 mL αποσταγμένου ή απιονισμένου νερού.

Αποθήκευση και Σταθερότητα

Οι σωλήνες πηκτώματος, το πήκτωμα φόρτωσης και τα άλατα ρυθμιστικού διαλύματος πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C. Μην τα καταψύχετε. Με τη σωστή φύλαξη τα αντιδραστήρια, ανοιγμένα ή σφραγισμένα, παραμένουν σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ
Για In Vitro Διαγνωστική Χρήση Μόνο

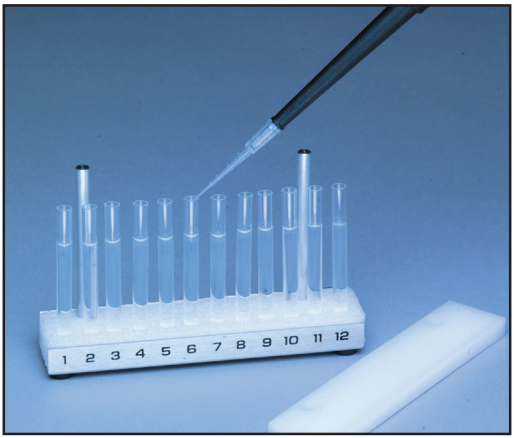
- Χρησιμοποιείται το Κιτ Lipoprint LDL μόνο σύμφωνα με τις οδηγίες του ένθετου για το Lipoprint.
- Το διάλυμα πηκτώματος φόρτωσης περιέχει ακρυλαμίδιο το οποίο είναι τοξικό όταν έλθει σε επαφή με το δέρμα ή αν το καταπιείτε. Αποφύγετε την εισπνοή και την παρατεταμένη έκθεση στο διάλυμα πηκτώματος φόρτωσης.
- Το πήκτωμα φόρτωσης είναι ευαίσθητο στο φως και είναι συσκευασμένο σε σκουρόχρωμη γυάλινη φιάλη.
- Αποφύγετε να χρησιμοποιείτε το στόμα για μεταφορά με πιπέτα καθώς και κάθε επαφή οποιουδήποτε μέρους του σώματος με τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα.
- Πρέπει να μεταχειρίζεστε όλα τα δείγματα, τα αντιδραστήρια και τους μάρτυρες ως δυνητικά λοιμώδη αν ληφθούν από το στόμα ή απορροφηθούν μέσω παρατεταμένης επαφής με το δέρμα. Για το χειρισμό και την απόρριψη των υλικών, πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις σύμφωνα με τα ισχύοντα στο εργαστήριό σας.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο δείγματα νηστείας (12 ώρες).
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ορός ή πλάσμα με EDTA (Βλ. σελ. 15).
- Μην χρησιμοποιείτε ηπαρίνη ως αντιπηκτικό.
- Τα δείγματα μπορούν να φυλαχτούν μέχρι 7 ημέρες στους 2–8°C.
- Δεν συνιστάται η κατάψυξη των δειγμάτων. Ωστόσο, αν κάποιο δείγμα πρέπει να καταψυχθεί, αυτό πρέπει να γίνει κρυογονικά (–70°C ή χαμηλότερα).

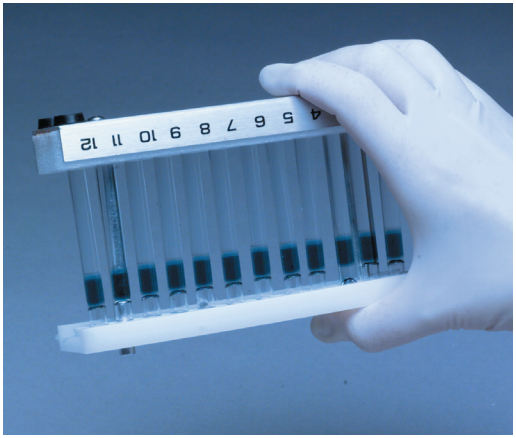
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

1. Παρασκευάστε το ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρολυτών όπως περιγράφεται, διαλύοντας ένα φιαλίδιο αλάτων ρυθμιστικού διαλύματος σε 1200 mL αποσταγμένου/απιονισμένου νερού.
2. Αφαιρέστε τους Σωλήνες Πηκτώματος από το δοχείο, σκουπίστε τους και τοποθετήστε τους στο στατήρα προετοιμασίας με το άδειο άκρο προς τα πάνω (Εικ. 4). Αποφύγετε να αγγίζετε τα άκρα του Σωλήνα Πηκτώματος ή να ασκείτε πίεση στα πηκτώματα γιατί αυτό προκαλεί την είσοδο φυσαλίδων αέρα στο πήκτωμα. Μη χρησιμοποιείτε το Σωλήνα Πηκτώματος αν υπάρχουν μέσα φυσαλίδες αέρα ή προεξέχει πήκτωμα.
3. Αφαιρέστε πλήρως το ρυθμιστικό διάλυμα αποθήκευσης από το επάνω μέρος των πηκτωμάτων αντιστρέφοντας και τινάζοντας το στατήρα. Αν χρειάζεται, ακουμπήστε το άκρο του σωλήνα πάνω σε διηθητικό χαρτί καθώς οι σωλήνες είναι ανεστραμμένοι για να απομακρυνθεί όλο το ρυθμιστικό διάλυμα από το εσωτερικό του σωλήνα.
4. Τοποθετήστε 25 μL δείγματος σε κάθε σωλήνα. (Εικ. 4)



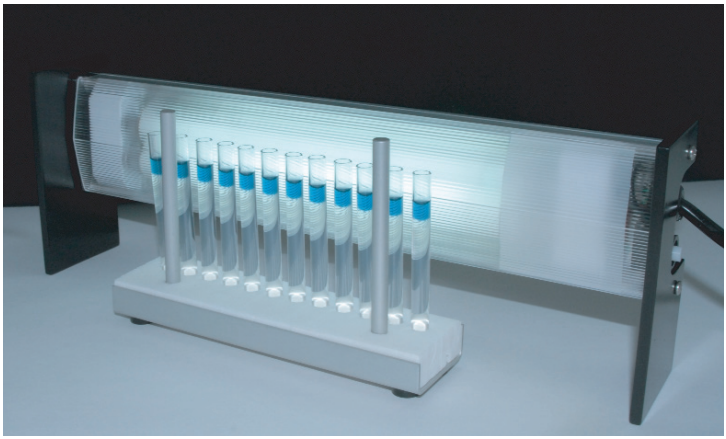
Εικόνα 4. Τοποθέτηση δειγμάτων

5. Τοποθετήστε 200 μL Πηκτώματος Φόρτωσης Lipoprint σε κάθε σωλήνα.
6. Τοποθετήστε μια ταινία Parafilm μεταξύ των Σωλήνων Πηκτώματος και του Καλύμματος του Στατήρα Προετοιμασίας για να αποφευχθεί τυχόν μόλυνση. Αναμίξτε το Πήκτωμα Φόρτωσης με τα δείγματα αναστρέφοντας μερικές φορές το Στατήρα Προετοιμασίας. (Εικ. 5)



Εικόνα 5. Ανάμιξη του πηκτώματος φόρτωσης και των δειγμάτων

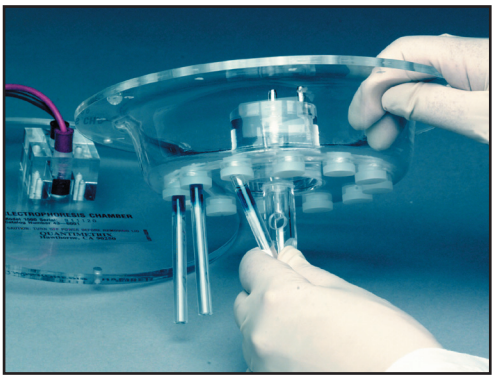
7. Τοποθετήστε όρθια τη Λυχνία Προετοιμασίας με τη λάμπα από πάνω. Τοποθετήστε το φορτωμένο Στατήρα Προετοιμασίας έτσι ώστε το Πήκτωμα Φόρτωσης να αγγίζει τη λάμπα. (Εικ. 6) Φωτοπολυμερίστε τα Πηκτώματα Φόρτωσης επί 30 λεπτά (αλλά όχι περισσότερο από 40 λεπτά).



Εικόνα 6. Φωτοπολυμερισμός

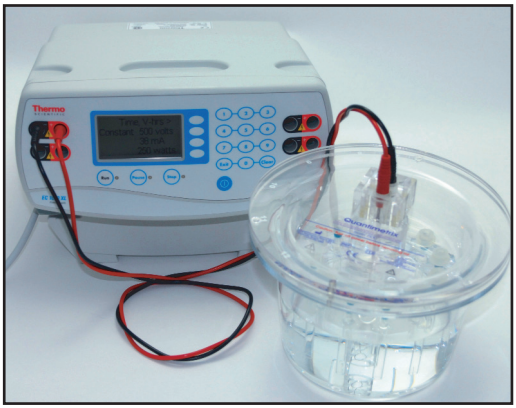
8. Μετά την ολοκλήρωση του φωτοπολυμερισμού, αφαιρέστε κάθε Σωλήνα Πηκτώματος από το Στατήρα Προετοιμασίας και εισάγετέ τους προσεκτικά στον προσαρμογέα σιλικόνης του επάνω θαλάμου. Κρατώντας το Σωλήνα Πηκτώματος από το πλάι, ωθήστε τον προς τα επάνω μέχρι το άκρο του πηκτώματος φόρτωσης του σωλήνα πηκτώματος να φτάσει στο επίπεδο της επάνω πλευράς του προσαρμογέα. Η εισαγωγή είναι ευκολότερη αν βραχεί το πάνω μέρος του Σωλήνα Πηκτώματος. Αποφύγετε να ακουμπήσετε οποιοδήποτε από τα άκρα του σωλήνα στη διάρκεια αυτού του βήματος. Αν η εκτέλεση γίνει με θάλαμο που δεν έχει γεμίσει πλήρως, εφαρμόστε στους κενούς προσαρμογείς τους μικρούς γυάλινους

σωλήνες που παρέχονται για αυτό το σκοπό. Ωθήστε τους σωλήνες από το επάνω μέρος μέχρι να φτάσουν στο ίδιο επίπεδο με την κάτω πλευρά του προσαρμογέα. (Εικ. 7)



Εικόνα 7. Φόρτωση σωλήνων

9. Τοποθετήστε 1000 mL ρυθμιστικού διαλύματος ηλεκτρολυτών στον κάτω θάλαμο και 200 mL στον επάνω θάλαμο. Το κάτω ρυθμιστικό διάλυμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξανά έως πέντε φορές. **Χρησιμοποιείτε μόνο φρέσκο ρυθμιστικό διάλυμα στον επάνω θάλαμο**. Το ρυθμιστικό διάλυμα πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18–27°C).
10. Μετά τη συναρμολόγηση των δύο θαλάμων και την πλήρωση με το ρυθμιστικό διάλυμα, εξετάστε προσεκτικά κάθε σωλήνα για τυχόν φυσαλίδες αέρα. Αφαιρέστε τις φυσαλίδες που τυχόν υπάρχουν με το ρύγχος μιας πιπέτας. Οι φυσαλίδες μπορεί να εμποδίσουν τη διέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος.
11. Τοποθετήστε το καπάκι του θαλάμου ηλεκτροφόρησης στη θέση του και συνδέστε το με την πηγή τροφοδοσίας. (Εικ. 8) Προσαρμόστε την πηγή τροφοδοσίας έτσι ώστε να δίνει ρεύμα στα **3 mA ανά Σωλήνα Πηκτώματος** (π.χ., 36 mA για 12 σωλήνες, 18 mA για 6 σωλήνες κ.ο.κ.). Η τάση πρέπει να ρυθμιστεί στη μέγιστη παροχή (500V).



Εικόνα 8. Συναρμολογημένος θάλαμος

12. Ο χρόνος ηλεκτροφόρησης είναι περίπου 60 λεπτά. Όταν το κλάσμα HDL απέχει περίπου 1 cm από τον πυθμένα του Σωλήνα Πηκτώματος που παρουσιάζει την ταχύτερη μετακίνηση, σταματήστε την ηλεκτροφόρηση.
13. Αφού ολοκληρωθεί η ηλεκτροφόρηση, διακόψτε την τροφοδοσία (OFF), αφαιρέστε το καπάκι του θαλάμου και απορρίψτε το ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρολυτών που βρίσκεται στον επάνω θάλαμο. Το κάτω ρυθμιστικό διάλυμα μπορεί να φυλαχτεί και να χρησιμοποιηθεί ξανά έως πέντε φορές. Απορρίψτε το μετά από 7 ημέρες.

14. Πριν αφαιρέσετε τους Σωλήνες Πηκτώματος από το θάλαμο ηλεκτροφόρησης, σκουπίστε το ρυθμιστικό διάλυμα και τοποθετήστε τους στον Στατήρα Προετοιμασίας για να τους μεταφέρετε στο σαρωτή για την ανάλυση. Αφήστε τα σωληνάρια γέλης σε ηρεμία για τουλάχιστον 30 λεπτά αλλά όχι περισσότερο από δύο ώρες πριν την ανίχνευση.

Σημείωση διαδικασίας: *Στη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης μπορεί να γίνει στρέβλωση της επιφάνειας του διαχωριστικού πηκτώματος και της ζώνης VLDL. Η παραμόρφωση διορθώνεται αφού αφαιρεθούν τα πηκτώματα από το θάλαμο ηλεκτροφόρησης με προσεκτική εισαγωγή του εργαλείου περιθωρίου από την κορυφή του πηκτώματος φόρτωσης, κατά μήκος του γυαλιού. Με μια κυκλική κίνηση διορθώστε την επιφάνεια του διαχωριστικού πηκτώματος. Το πήκτωμα επανέρχεται στο κανονικό του σχήμα. Αποφύγετε την εκτόπιση του πηκτώματος φόρτωσης όταν τραβάτε το εργαλείο (αν εκτοπιστεί το πήκτωμα γεμίστε το κενό με απιονισμένο/αποσταγμένο νερό).*

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

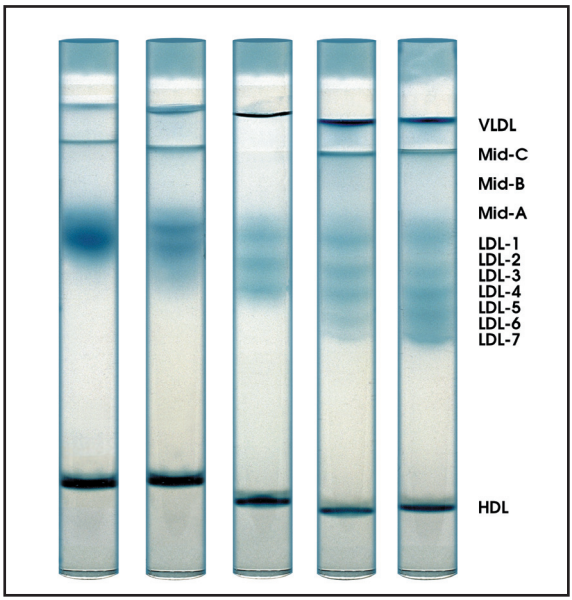
Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας πρέπει να παρακολουθείται τακτικά με υλικά ελέγχου που προσομοιάζουν επαρκώς την απόδοση δειγμάτων των ασθενών. Συνιστάται η χρήση υλικού ελέγχου ποιότητας με κάθε εξέταση δειγμάτων ασθενών. Τα υλικά ελέγχου προορίζονται μόνο για την παρακολούθηση της ακρίβειας και της πιστότητας. Η ανάκτηση τιμών ελέγχου εντός του κατάλληλου εύρους πρέπει να είναι τα κριτήρια για την εγκυρότητα της απόδοσης της δοκιμασίας.

Ο έλεγχος ποιότητας πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τους τοπικούς, πολιτειακούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις επικύρωσης. Ένα κατάλληλο υλικό ελέγχου ποιότητας, το Liposure, είναι διαθέσιμο από την Quantimetrix Corporation.

ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

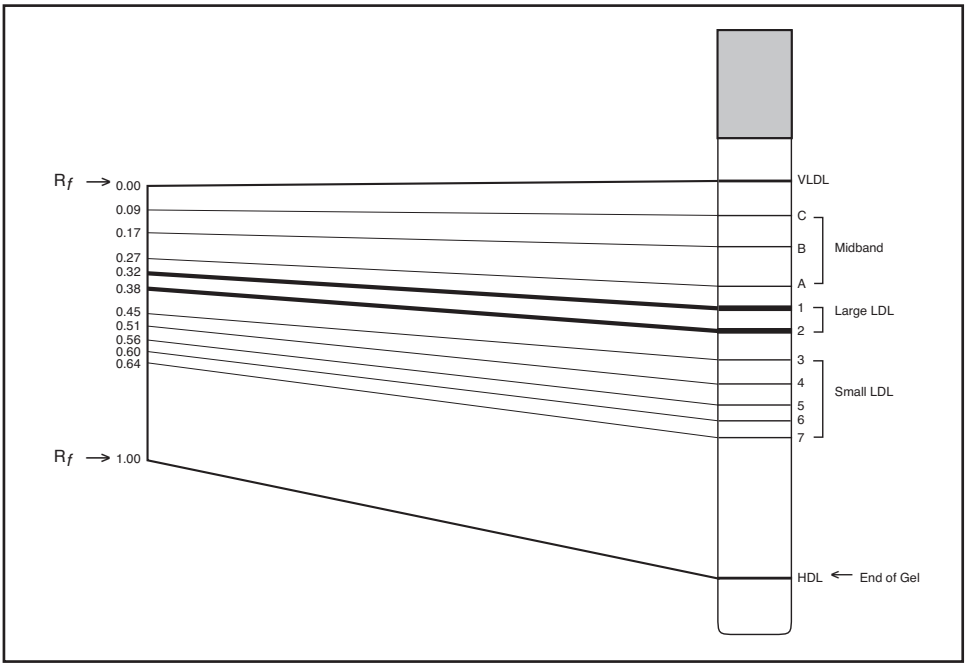
Σημείωση: Οι διάφορες ζώνες ενός προφίλ Lipoprint μπορούν να αναγνωριστούν χρησιμοποιώντας Υπόδειγμα Lipoprint για ποσοτική αξιολόγηση (ομοιογενής κατανομή LDL έναντι ετερογενούς κατανομής).

Το προφίλ λιποπρωτεϊνών αντιπροσωπεύει την κατάσταση λιπιδίων του δείγματος ασθενούς. (Εικ. 9) Ένα φυσιολογικό προφίλ λιποπρωτεϊνών (Πρότυπο A) εμφανίζει τυπικά ζώνες για VLDL, ενδιάμεσες ζώνες C, B και A (αυτές περιλαμβάνουν τις IDL), LDL–1 και 2 και HDL. Η παρουσία επιπλέον υποκλασμάτων LDL (LDL–3 έως 7) είναι ενδεικτικό ετερογενούς LDL (π.χ. Πρότυπο B).



Εικόνα 9. Κατανομή υποκλασμάτων λιποπρωτεϊνών για πέντε άτομα – από ομοιογενές πρότυπο LDL (αριστερά) μέχρι προοδευτικά πιο ετερογενές πρότυπο (δεξιά).

Χρήση του Υποδείγματος Lipoprint
Το Υπόδειγμα Συστήματος Lipoprint LDL χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των υποκλασμάτων λιποπρωτεϊνών που υπάρχουν στο πήκτωμα. (Εικ. 10)



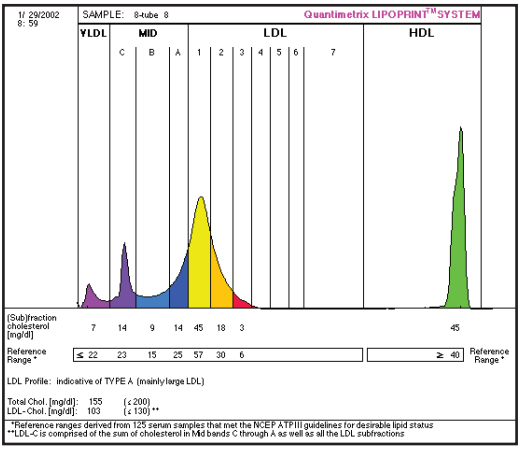
Εικόνα 10. Υπόδειγμα Υποκλασμάτων Συστήματος LDL Lipoprint

1. Σημειώστε με ένα μαρκαδόρο πάνω στο γυάλινο σωλήνα το κέντρο κάθε ζώνης λιποπρωτεϊνών που εμφανίζεται.
2. Ευθυγραμμίστε το κλάσμα VLDL στο επάνω μέρος του διαχωριστικού πηκτώματος με μια γραμμή στο υπόδειγμα που ονομάζεται “VLDL”.
3. Ολισθήστε το πήκτωμα κατά μήκος του υποδείγματος μέχρι η ζώνη HDL να βρεθεί πάνω από τη γραμμή που σημειώνεται “HDL”.
4. Προσδιορίστε τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που υπάρχουν στο δείγμα αντιστοιχώντας τις ζώνες στο πήκτωμα με τις αντίστοιχες γραμμές στο υπόδειγμα.

ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Σημείωση*: Πρέπει να λαμβάνεται μια τιμή ολικής χοληστερόλης με κλινικά εγκεκριμένη μέθοδο χοληστερόλης για κάθε δείγμα που αναλύεται, πριν την παραγωγή των ποσοτικών αποτελεσμάτων.* ***Η συγκέντρωση ολικής χοληστερόλης του δείγματος πρέπει να είναι >100 mg/dL.***

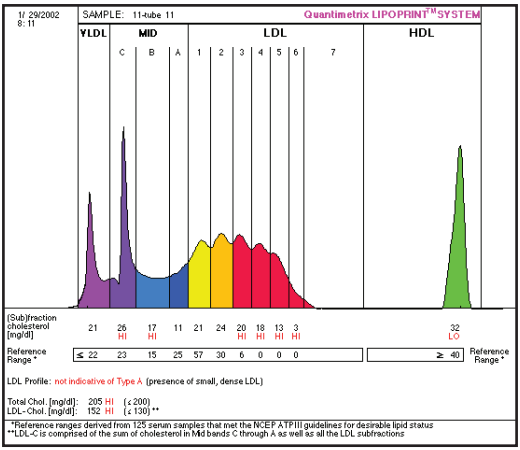
Οι σωλήνες πηκτώματος σαρώνονται και προσδιορίζεται το σχετικό εμβαδόν για κάθε υποκλάσμα λιποπρωτεΐνης χαράζοντας κατακόρυφες γραμμές σε προκαθορισμένα εύρη αποκοπής για κάθε ζώνη. Η ποσότητα χοληστερόλης σε κάθε ζώνη λιποπρωτεϊνών υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας το σχετικό εμβαδό κάθε ζώνης επί την ολική χοληστερόλη του δείγματος. Η χοληστερόλη LDL υπολογίζεται ως το άθροισμα των συγκεντρώσεων χοληστερόλης σε όλα τα υποκλάσματα LDL συν τις ενδιάμεσες ζώνες A, B και C.

Παραδοσιακά τα προφίλ υποκλασμάτων λιποπρωτεϊνών έχουν ταξινομηθεί στον Τύπο A (φυσιολογικός) και στον Τύπο B (μη φυσιολογικός) με βάση το μέσο μέγεθος των σωματιδίων LDL [5]. Ένα φυσιολογικό προφίλ Lipoprint με κυρίως μεγάλα LDL (LDL–1 και LDL–2) είναι συμβατό με τον Τύπο A. (Εικ. 11)



Εικόνα 11. Τυπικό Φυσιολογικό Προφίλ Lipoprint

Επίσης, ένα μη φυσιολογικό προφίλ Lipoprint με κυρίως μικρά LDL (LDL–3 και LDL–7) είναι συμβατό με τον Τύπο B, όπως περιγράφεται στη βιβλιογραφία. (Εικ. 12)



Εικόνα 12. Τυπικό Μη Φυσιολογικό Προφίλ Lipoprint

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Η δοκιμασία Lipoprint LDL πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα δεδομένα (π.χ. πρόσθετες κλινικές δοκιμασίες, παρατηρήσεις του ιατρού, οικογενειακό ιστορικό, κλπ.).
- Η ηπαρίνη παρεμβαίνει στο διαχωρισμό των υποκλασμάτων LDL.
- Η ολική χοληστερόλη στο δείγμα πρέπει να είναι πάνω από 100 mg/dL για να αποφευχθεί η υπερτίμηση της χοληστερόλης VLDL.
- Τα χυλομικρά στο δείγμα καθιστούν αδύνατη τη μέτρηση της χοληστερόλης των υποκλασμάτων. Η εμφάνιση του δείγματος (π.χ. νεφελώδης εμφάνιση, θολότητα ή κρεμώδες στρώμα στο επάνω μέρος του δείγματος) μετά από ολονύχτια παραμονή στο ψυγείο πρέπει να χρησιμοποιείται ως επιβεβαιωτική δοκιμασία για την παρουσία χυλομικρών.
- Τα αποτελέσματα του Lipoprint δεν έχουν αξιολογηθεί για εξέταση λιποπρωτεϊνών κατά την εγκυμοσύνη.
- Το NCEP δεν έχει δημοσιεύσει οδηγίες για βέλτιστες/επιθυμητές τιμές για τα υποκλάσματα LDL.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

HDL-C και LDL-C

Το National Cholesterol Education Program (NCEP) έχει καθιερώσει σημεία αποκοπής που σχετίζονται με κίνδυνο για τη χοληστερόλη LDL και τη χοληστερόλη HDL. Αυτά επαναβεβαιώθηκαν πρόσφατα τον Μάιο του 2001 με την τρίτη αναφορά του NCEP Adult Treatment Panel (ATP III) [10]:

Κλάσμα	**Εύρος**	**Κατάσταση**
HDL-C	≥ 40 mg/dL	Μειωμένος κίνδυνος σε υψηλότερα επίπεδα
	< 40 mg/dL	Αυξημένος κίνδυνος
LDL-C	≤ 100 mg/dL	Βέλτιστο για ασθενείς με στεφανιαία καρδιοπάθεια (CHD)
	< 130 mg/dL	Επιθυμητό
	130 – 159 mg/dL	Οριακά υψηλός κίνδυνος
	≥ 160 mg/dL	Υψηλός κίνδυνος

Το LDL-C περιλαμβάνει όλα τα σωματίδια λιποπρωτεϊνών με d > 1,006 έως 1,063 kg/L, όπως τα υπολείμματα VLDL, IDL, Lp(a) και LDL [2]. Αυτά τα σωματίδια αντιστοιχούν στο άθροισμα των ενδιάμεσων ζωνών και στα υποκλάσματα LDL που διαχωρίζονται από το Σύστημα Lipoprint.

Χοληστερόλη Υποκλασμάτων

Οι αναμενόμενες φυσιολογικές τιμές για τα ξεχωριστά κλάσματα του Συστήματος Lipoprint προσδιορίστηκαν ως εξής: Χρησιμοποιήθηκαν αυτοαποκαλούμενα υγιή άτομα, N = 273 (ηλικίας 18 έως 85 ετών, 166 γυναίκες και 107 άνδρες, 47% Καυκάσιοι, 18% Ισπανόφωνοι, 16% Ασιάτες, 5% Μαύροι και 14% αδιευκρίνιστοι). Αυτοί οι εθελοντές νήστεψαν για 12 ώρες. Συλλέχθηκε δείγμα αίματος σε σωλήνα ορού με φλεβοπαρακέντηση. Τα δείγματα ορού χρησιμοποιήθηκαν για έλεγχο των ενδεικνυόμενων παραμέτρων λιπιδίων και την παραγωγή των προφίλ λιποπροτεϊνών με το σύστημα Lipoprint LDL.

Τα κριτήρια αποκλεισμού περιλάμβαναν διαβητικούς, άτομα που λαμβάνουν φάρμακα μείωσης των λιπιδίων και άτομα με πρόσφατες καρδιακές προσβολές. Επιπλέον, αποκλείστηκαν από τη μελέτη έγκυες γυναίκες εξαιτίας της αλλαγής στη λιπιδική τους κατάσταση [12].

Μόνο δείγματα που ανταποκρίνονται στις κατευθυντήριες οδηγίες του NCEP (ATP III) για την επιθυμητή λιπιδική κατάσταση [10], δηλαδή TC < 200 mg/dL, LDL < 130 mg/dL, HDL > 40 mg/dL και Τριγλυκερίδια < 150 mg/dL χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των αναμενόμενων τιμών. Τα φυσιολογικά δείγματα, N =114 (ηλικίας 18 έως 84 ετών, 32% άνδρες και 68% γυναίκες) χρησιμοποιήθηκαν για την καθιέρωση των αναμενόμενων φυσιολογικών τιμών, που καθορίστηκαν ως το διάστημα εμπιστοσύνης 95% (μέση τιμή ± 2 SD) για κάθε παράμετρο λιπιδίων όπως λαμβάνεται από το Σύστημα Lipoprint LDL. (Πίνακας 1)

Πίνακας 1. Φυσιολογικός πληθυσμός

		Χοληστερόλη ενδιάμεσων ζωνών			Χοληστερόλη υποκλασμάτων LDL					
	VLDL (mg/dL)	Mid-C (mg/dL)	Mid-B (mg/dL)	Mid-A (mg/dL)	LDL-1 (mg/dL)	LDL-2 (mg/dL)	LDL-3 (mg/dL)	Ολική LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	TC (mg/dL)
εύρος	6 - 26	9 - 24	5 - 17	6 - 26	24 - 59	4 - 32	0 - 4	59 - 128	40 - 103	123 - 199
μέσος όρος	12,9	16,5	10,1	16,6	41,1	14,3	1,9	95,7	56,8	168,1
SD	4,12	2,82	2,40	4,26	7,85	6,82	0,81	16,56	11,29	18,45
95% εύρος	4,7 - 22,1	10,9 - 22,1	5,3 - 14,9	8,1 - 25,1	25,4 -56,8	0,7 - 28,6	0 - 3,6	62,5 - 128,8	40,0 - 79,4	131,2 - 200,0
N*	114	114	114	114	114	114	44	114	114	114

* Αριθμός των δειγμάτων που εμφανίζουν τα αντίστοιχα κλάσματα.

Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώνει το δικό του φυσιολογικό εύρος, το οποίο μπορεί να είναι μοναδικό για τον πληθυσμό που εξυπηρετεί, ανάλογα με τους γεωγραφικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες και παράγοντες που αφορούν τους ασθενείς.

Δεδομένα για τον πληθυσμό εκτός της ομάδας NCEP, N = 141 (ηλικίας 18 ές 77 ετών, 46% άνδρες και 54% γυναίκες) παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Πληθυσμός εκτός των οδηγιών NCEP

		Χοληστερόλη ενδιάμεσων ζωνών			Χοληστερόλη υποκλασμάτων LDL							
	VLDL (mg/dL)	Mid-C (mg/dL)	Mid-B (mg/dL)	Mid-A (mg/dL)	LDL-1 (mg/dL)	LDL-2 (mg/dL)	LDL-3 (mg/dL)	LDL-4 (mg/dL)	LDL-5 (mg/dL)	Ολική LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	TC (mg/dL)
εύρος	5 - 69	9 - 40	5 - 37	5 - 34	9 - 77	7 - 55	0 - 35	0 - 28	0 - 11	58 - 215	26 - 137	104 - 319
μέσος όρος	24,4	23,2	14,6	18,6	46,5	31,5	9,2	4,7	5,5	134,8	54,2	219,4
SD	13,50	5,65	5,21	6,14	15,13	10,98	7,50	6,05	3,6	27,17	18,05	35,04
95% εύρος	0 - 51,4	12,0 - 34,7	4,2 - 25,0	6,4 - 30,9	16,2 - 76,8	9,5 - 53,5	0 - 24,2	0 - 16,8	0 - 16,8	80,5 - 189,1	18,2 - 90,2	148,6 - 290,2
N*	141	141	141	141	141	141	115	44	8	141	141	141

* Αριθμός των δειγμάτων που εμφανίζουν τα αντίστοιχα κλάσματα.

ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Πιστότητα

Τέσσερα δείγματα ελέγχθηκαν για μεταβλητότητα εντός και μεταξύ δοκιμασιών, αντίστοιχα. Επιλέχθηκαν δείγματα με χαμηλή, μέτρια και υψηλή HDL-C και LDL-C:

Δείγμα 1: Χαμηλή LDL-C, υψηλή HDL-C και ομοιογενές πρότυπο LDL (LDL-1 και 2 μόνο)
Δείγμα 2: Μέτρια LDL-C, μέτρια HDL-C και ελαφρώς διασκορπισμένο πρότυπο LDL (LDL-1, 2, 3)
Δείγμα 3: Υψηλή LDL, χαμηλή HDL και διασκορπισμένο πρότυπο LDL (LDL-1, 2, 3 και 4)
Δείγμα 4: Υψηλή LDL-C, ενδιάμεση HDL-C και διασκορπισμένο πρότυπο LDL (LDL-1 έως 7)

Πιστότητα εντός δοκιμασίας

Τα δείγματα εξετάστηκαν με 12 επαναλήψεις (η μέγιστη χωρητικότητα του θαλάμου ηλεκτροφόρησης). Τα αποτελέσματα πιστότητας για HDL-C, LDL-C (άθροισμα των ενδιάμεσων ζωνών C, B, A και υποκλασμάτων LDL) και VLDL-C παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Δεδομένα πιστότητας εντός δοκιμασιών **HDL**, **LDL** και **VLDL**

Δείγμα	N	HDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	VLDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	12	55	1,47	2,68	86	0,90	1,05	17	0,99	5,86
2	12	42	0,78	1,87	120	1,43	1,20	15	0,99	6,43
3	12	31	0,90	2,87	133	2,02	1,52	35	1,97	5,58
4	12	48	1,37	2,84	180	2,02	1,12	23	1,66	7,28

Δεδομένα πιστότητας για ενδιάμεσες ζώνες C, B, A και υποκλάσματα LDL 1-7 παρουσιάζονται στους Πίνακες 4 και 5.

Πίνακας 4. Δεδομένα πιστότητας εντός δοκιμασιών για υποκλάσματα **ενδιάμεσων ζωνών**

Δείγμα	N	Mid-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	Mid-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	Mid-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	12	16	0,76	4,75	9	0,60	6,67	14	1,56	11,14
2	12	17	1,44	8,47	13	0,51	3,92	14	0,72	5,14
3	12	22	1,21	5,50	16	0,47	2,94	13	0,50	3,85
4	12	30	1,44	4,80	15	1,36	9,07	10	0,77	7,70

Πίνακας 5. Δεδομένα πιστότητας εντός δοκιμασίας για υποκλάσματα **LDL**

Δείγμα	N	LDL-1 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-2 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-3 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-4 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	12	36	0,60	1,67	10	1,68	16,80	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
2	12	28	0,91	3,25	32	0,70	2,19	14	1,65	11,79	Δεν υπάρχει	-	-
3	12	21	0,51	2,43	19	0,88	4,63	18	0,38	2,11	19	0,86	4,53
4	12	24	0,86	3,58	22	0,80	3,64	17	0,28	1,65	20	0,49	2,45

Δείγμα	N	LDL-5 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-6 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-7 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	12	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
2	12	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
3	12	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
4	12	24	0,41	1,72	16	0,72	4,62	4	0,68	17,89

Πιστότητα μεταξύ δοκιμασιών

Τέσσερα δείγματα ελέγχθηκαν εις διπλούν, δύο φορές την ημέρα για 5 ημέρες, σε 4 θαλάμους ηλεκτροφόρησης χρησιμοποιώντας την ίδια παρτίδα σωλήνων πηκτώματος. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα πιστότητας μεταξύ δοκιμασιών παρουσιάζονται στους Πίνακες 6 – 8.

Πίνακας 6. Δεδομένα πιστότητας μεταξύ δοκιμασιών **HDL**, **LDL** και **VLDL**

Δείγμα	N	HDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	VLDL-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	80	60	1,49	2,49	94	1,41	1,50	10	0,90	9,40
2	80	46	1,45	3,15	137	1,73	1,26	11	0,91	8,27
3	80	32	1,52	4,75	160	2`3	1,27	33	2,35	7,12
4	80	50	2,32	4,69	178	2,79	1,57	23	1,97	8,57

εδομένα πιστότητας μεταξύ δοκιμασιών για υποκλάσματα **ενδιάμεσων ζωνών**

Δείγμα	N	Mid-C Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	Mid.-B Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	Mid.-A Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	80	14	1,23	8,79	10	0,87	8,27	19	2,00	10,90
2	80	18	1,99	11,06	13	0,86	6,62	16	1,33	8,31
3	80	21	2,84	13,63	22	1,04	4,73	17	1,27	7,47
4	80	28	1,87	7,79	13	0,91	7,00	10	0,81	8,10

Πίνακας 8. Δεδομένα πιστότητας μεταξύ δοκιμασιών για υποκλάσματα **LDL**

Δείγμα	N	LDL-1 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-2 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-3 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-4 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	80	41	1,61	3,92	11	1,47	13,50	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
2	80	37	1,43	3,86	39	1,50	3,85	14	2,69	19,21	Δεν υπάρχει	-	-
3	80	29	1,10	3,79	24	1,73	7,21	20	1,33	6,65	20	1,21	6,05
4	80	24	0,88	3,67	22	1,48	6,73	17	0,95	5,59	20	0,69	3,45

Δείγμα	N	LDL-5 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-6 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)	LDL-7 Μέσος όρος (mg/dL)	SD	CV (%)
1	80	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
2	80	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
3	80	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-	Δεν υπάρχει	-	-
4	80	24	0,62	2,58	17	2,05	12,06	4	1,39	33,90

Γραμμικότητα
Μελέτες γραμμικότητας διεξήχθησαν με δύο δείγματα ορών ενισχυμένων με HDL-C ή LDL-C, απομονωμένα με υπερφυγοκέντρηση.

Δείγμα 1
LDL-C: 695 mg/dL
HDL-C: 260 mg/dL
VLDL-C: 140 mg/dL

Δείγμα 2
LDL-C: 163 mg/dL
HDL-C: 178 mg/dL
VLDL-C: 38 mg/dL

Οι σειριακές αραιώσεις παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας φυσιολογικό διάλυμα ορού ανθρώπινης αλβουμίνης. Οι συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν για συνολικές LDL-C, HDL-C και VLDL-C συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. (Πίνακες 9 – 11) Η ποσοστιαία ανάκτηση υπολογίστηκε ως εξής: % ανάκτηση = (παρατηρουμένη/αναμενόμενη τιμή) x 100.

Πίνακας 9. Γραμμικότητα αραίωσης για **LDL**

Αραίωση	Παρατηρούμενη LDL (mg/dL)	Αναμενόμενη LDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	695	695	100,0
10%	627	626	100,2
30%	466	486	95,9
50%	351	348	100,9
70%	195	209	93,3
95%	59	69	85,6

Αραίωση	Παρατηρούμενη LDL (mg/dL)	Αναμενόμενη LDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	163	163	100,0
5%	155	157	98,7
10%	151	148	102,0
50%	84	89	94,4
90%	15	15	100,0
95%	13	13	100,0

Πίνακας 10. Γραμμικότητα αραίωσης για **HDL**

Αραίωση	Παρατηρούμενη HDL (mg/dL)	Αναμενόμενη HDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	260	260	100,0
10%	218	234	93,2
30%	174	182	95,9
50%	117	130	90,0
70%	73	78	93,6
90%	25	26	96,2

Αραίωση	Παρατηρούμενη HDL (mg/dL)	Αναμενόμενη HDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	178	178	100,0
5%	170	169	100,6
10%	162	160	101,3
50%	95	89	106,7
95%	11	9	122,2
97%	5	5,3	94,3

Πίνακας 11. Γραμμικότητα αραίωσης για **VLDL**

Αραίωση	Παρατηρούμενη VLDL (mg/dL)	Αναμενόμενη VLDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	140	140	100,0
10%	129	126	102,4
30%	99	98	101,0
50%	75	70	107,1
70%	48	42	115,5
90%	22	14	157,1

Αραίωση	Παρατηρούμενη VLDL (mg/dL)	Αναμενόμενη VLDL (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
0%	38	38	100,0
5%	36	37	97,3
10%	34	35	97,1
50%	24	24	100,0
90%	17	13	130,8
95%	13	11,4	114,0

Δόση-Ανταπόκριση

Το δείγμα ορού A (που περιέχει μεγάλο εύρος υποκλασμάτων) αναμείχτηκε με ισοδύναμο όγκο του δείγματος B (που περιέχει κυρίως LDL-2) για να δώσει AB. Τα δείγματα αναλύθηκαν με το Σύστημα Lipoprint και οι συγκεντρώσεις χοληστερόλης των μεμονωμένων κλασμάτων καθορίστηκαν και οι παρατηρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. (Πίνακας 12)

Παρομοίως, το δείγμα ορού A (που περιέχει μεγάλο εύρος υποκλασμάτων) αναμείχτηκε με ισοδύναμο όγκο του δείγματος C (που περιέχει κυρίως LDL-1) για να δώσει AC. Τα δείγματα αναλύθηκαν με το Σύστημα Lipoprint και οι συγκεντρώσεις χοληστερόλης των μεμονωμένων κλασμάτων καθορίστηκαν και συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές. (Πίνακας 13)

Πίνακας 12. Παρατηρούμενες έναντι αναμενόμενων τιμών για δείγμα ανάμιξης AB

	A	B	AB		
	mg/dl	mg/dl	αναμενόμενη (mg/dL)	παρατηρούμενη (mg/dL)	ανάκτηση (%)
VLDL	35	20	28	29	103,6
Midt-C	37	20	29	28	97,6
Midt-B	35	15	25	21	84,0
Midt-A	15	15	15	15	100,0
LDL-1	21	29	25	26	104,0
LDL-2	17	49	33	37	112,1
LDL-3	14	28	21	25	119,0
LDL-4	14	5	10	12	120,0
LDL-5	12	-	6	5	83,8
LDL-6	9	-	4	2	50,0
LDL-7	15	-	7	2	28,8
HDL	29	35	32	35	109,4

Πίνακας 13. Παρατηρούμενες έναντι αναμενόμενων τιμών για δείγμα ανάμιξης AC

	A	C	AC		
	mg/dl	mg/dl	αναμενόμενη (mg/dL)	παρατηρούμενη (mg/dL)	ανάκτηση (%)
VLDL	35	13	24	25	104,2
Midt-C	37	16	27	25	92,6
Midt-B	35	11	23	18	78,3
Midt-A	15	16	16	14	87,5
LDL-1	21	54	38	36	94,8
LDL-2	17	38	28	34	121,4
LDL-3	14	7	11	16	145,4
LDL-4	14	-	7	11	157,1
LDL-5	12	-	6	5	83,3
LDL-6	9	-	4	2	50,0
LDL-7	15	-	7	2	28,6
HDL	29	40	35	37	105,7

Ευαισθησία

Η ευαισθησία του Συστήματος Lipoprint ορίστηκε ως η ελάχιστη συγκέντρωση της HDL-C και η συνολική LDL-C που μπορούν να ανιχνευτούν με αξιοπιστία. Καθορίστηκε ως το σημείο τομής του χαμηλότερου διαστήματος εμπιστοσύνης 95% του μέσου όρου με τον άξονα των X στο διάγραμμα αναμενόμενων ως προ τις πραγματικές τιμές μιας σειράς αραιώσεων για τις συγκεκριμένες παραμέτρους λιποπρωτεϊνών: Η ευαισθησία VLDL είναι ≥ 2,02 mg/dL, η ευαισθησία HDL είναι ≥ 3,65 mg/dL και η ευαισθησία Συνολικής LDL είναι ≥ 8,30 mg/dL.

Παρεμβολές

Ενδεχομένως παρεμβαλλόμενες ουσίες τοποθετήθηκαν σε δείγμα ορού στις συγκεντρώσεις που καταγράφονται στον Πίνακα 14 και εξετάστηκαν κατόπιν με ασυμβίβαστα δείγματα (4 αντίγραφα). Η αιμοσφαιρίνη σε συγκεντρώσεις πάνω από 200 mg/dL και η ηπαρίνη σε τυπικές συγκεντρώσεις που βρέθηκαν σε ηπαρινισμένους σωλήνες συλλογής πλάσματος βρέθηκε ότι παρεμβάλλονται με την εξέταση Lipoprint.

Πίνακας 14. Παρεμβολές

Παράγοντας παρεμβολής	Συγκ. (mg/dL)	VLDL-C (mg/dL)	Ανάκτηση (%)	LDL-C (mg/dL)	Ανάκτηση (%)	HDL-C (mg/dL)	Ανάκτηση (%)
καμία	-	17±1,1	100	115±1,9	100	42±2,4	100
χολερυθρίνη	20	15±0,9	89	115±2,2	100	45±1,6	107
αιμοσφαιρίνη	500	28±0,3	165	106±2,0	92	40±2,0	95
αιμοσφαιρίνη	200	18±0,2	106	116±0,7	101	40±0,6	95
νιασίνη	2,5	16±0,7	94	115±1,5	100	43±2,0	102
EDTA	200	16±1,0	94	114±0,4	99	44±1,2	105
ηπαρίνη	14 U/ml	20±0,4	118	113±1,4	98	41±1,9	98

Σύγκριση ορού έναντι πλάσματος
Δείγματα πλάσματος ορού και EDTA από 37 ασθενείς συγκρίθηκαν με το Σύστημα Lipoprint. Συσχετίστηκαν και τοποθετήθηκαν οι τιμές χοληστερόλης (mg/dL) όλων των κλασμάτων λιποπρωτεϊνών και υποκλασμάτων (N = 322), έως 12 ανά δείγμα, που παρασκευάστηκαν από το Σύστημα Lipoprint:

$$\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{πλάσματος}} = 0{,}995\ (\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{ορού}}) + 1{,}158 \qquad (r^2 = 0{,}971)$$

Σταθερότητα δειγμάτων
Δείγματα ορού (N = 22) που καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων χοληστερόλης και που περιέχουν 7 – 12 κλάσματα και υποκλάσματα, διατηρήθηκαν στο ψυγείο επί 7 ημέρες. Τα προφίλ Lipoprint για όλα τα δείγματα, παρασκευάστηκαν στην 3η και την 7η ημέρα και συγκρίθηκαν οι τιμές χοληστερόλης που προέκυψαν από όλα τα κλάσματα και υποκλάσματα λιποπρωτεϊνών (N = 206):

$$\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{ημέρας 3}} = 0{,}996\ (\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{ημέρας 0}}) + 0{,}075 \qquad (r^2 = 0{,}976)$$

$$\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{ημέρας 7}} = 0{,}964\ (\textbf{Χοληστερόλη}_{\textbf{ημέρας 0}}) + 0{,}758 \qquad (r^2 = 0{,}961)$$

Αποφασίστηκε ότι ο ορός και το πλάσμα EDTA είναι εξίσου κατάλληλα για δείγματα και ότι τα δείγματα μπορούν να αποθηκευτούν ψυγμένα (2 – 8°C) για έως 7 ημέρες.

Ακρίβεια μέσω συσχετισμού
Το Σύστημα Δοκιμασίας Lipoprint συγκρίθηκε με μια άμεση μέθοδο HDL (EQUAL Diagnostics HDL Direct Liquid Select) και μια άμεση μέθοδο LDL (EQUAL Diagnostics LDL Direct Liquid Select). Αξιολογήθηκε πληθυσμός 268 δειγμάτων ορού στον οποίο η LDL–C κυμαίνεται μεταξύ 55 – 218 mg/dL (Lipoprint) και 54 – 215 mg/dL (άμεση LDL) καθώς και άλλα δείγματα με HDL–C μεταξύ 24 – 129 mg/dL (Lipoprint) και 26 – 137 mg/dL (άμεση HDL). (Πίνακες 15 και 16)

Πίνακας 15.

	Lipoprint HDL	Άμεση HDL
N	268	268
Μέσος όρος (mg/dL)	53,2	54,8
SD (mg/dL)	15,13	15,43
παλινδρόμηση	Lipoprint HDL = 0,9361 ($HDL_{\text{άμεση}}$) + 1,8607	
r^2	0,912	

Πίνακας 16.

	Lipoprint LDL	Άμεση LDL
N	268	268
Μέσος όρος (mg/dL)	121,9	116,3
SD (mg/dL)	30,73	29,58
παλινδρόμηση	Lipoprint LDL = 0,998 ($LDL_{\text{άμεση}}$) + 5,7995	
r^2	0,923	

Πραγματοποιήθηκε μια παρόμοια σύγκριση ανάμεσα σε Ultracentrifugation (β–Ποσοτικοποίηση)και το Σύστημα Lipoprint LDL. Αξιολογήθηκε ένας πληθυσμός 40 δειγμάτων ορού με LDL–C ανάμεσα σε 66 – 211 mg/dL (Lipoprint) και 68 – 218 mg/dL (β–Ποσοτικοποίηση), με HDL–C ανάμεσα σε 29 – 91 mg/dL (Lipoprint) και 28 – 90 mg/dL (β–Ποσοτικοποίηση) καθώς και με VLDL–C ανάμεσα σε 9,5 – 49 mg/dL (Lipoprint) και 6 – 57 mg/dL (β–Ποσοτικοποίηση). (Πίνακες 17 – 19.)

Πίνακας 17.

	Lipoprint LDL	β–Ποσοτ. LDL
N	40	40
Μέσος όρος (mg/dL)	130,8	130,0
SD (mg/dL)	30,14	30,42
παλινδρόμηση	Lipoprint LDL = 0,933 ($LDL_{\beta\text{–Ποσοτ.}}$) + 9,430	
r^2	0,887	

Πίνακας 18.

	Lipoprint HDL	β–Ποσοτ. HDL
N	40	40
Μέσος όρος (mg/dL)	53,5	53,5
SD (mg/dL)	15,29	15,71
παλινδρόμηση	Lipoprint HDL = 0,944 ($HDL_{\beta\text{–Ποσοτ.}}$) + 3,030	
r^2	0,941	

Πίνακας 19.

	Lipoprint VLDL	B-Ποσοτ. VLDL
N	40	40
Μέσος όρος (mg/dL)	24,7	22,9
SD (mg/dL)	10,34	12,61
παλινδρόμηση	Lipoprint VLDL = 0,689 ($VLDL_{B-Ποσοτ.}$) + 7,990	
r^2	0,8216	

REFERENCES

1. Warnick GR, Wood PD. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: Executive summary. *Clin Chem* 1995; 41/10: 1427-1433.
2. Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: Executive summary. *Clin Chem* 1995; 41/10: 1414-1420.
3. Griffin BA, Caslake MJ, Yip B, Tait GW, Packard CJ, Shepherd J. Rapid isolation of low density lipoprotein (LDL) subfractions from plasma by density gradient ultracentrifugation. *Atherosclerosis* 1990; 83(1): 59-67.
4. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *In: Handbook of Lipoprotein Testing*, Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. AACC Press 1999, 2nd edition, Washington, DC. Pages 609-623.
5. Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Current Opinion in Lipidology* 1994; 5(6): 395-403.
6. Rajman I, Kendall MJ, Cramb R, Holder RL, Salih M, Gammage MD. Investigation of low density lipoprotein subfractions as a coronary risk factor in normotriglyceridaemic men. *Atherosclerosis* 1996; 125(2): 231-242.
7. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW, Schaefer EJ. Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arteriosclerosis* 1987; 7: 483-490.
8. Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass and risk of coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology* 1991; 2: 248-252.
9. Muñiz N. Measurement of plasma lipoproteins by electrophoresis on polyacrylamide gel. *Clin Chem* 1977; 23: 1826-1833.
10. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): Executive Summary. *NIH Publication* No. 01-3670, May 2001.
11. Stein E, Greer IA, Myers GL. National Cholesterol Education Program recommendations for triglyceride measurement. *Clin Chem* 1995; 41: 421-1426.
12. Sattar N, Greer IA, Louden J, Lindsay G, McConnel M, Shepherd J, Packard C. Lipoprotein Subfraction Changes in Normal Pregnancy. *J. Clin Endocrin. Metab* 1997; 82: 2483-2491.

ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

- Τηλέφωνο: +1.310.536.0006
- Φαξ: +1.310.536.0323
- E-mail: lipoprint@quantimetrix.com
- ιστοσελίδα: www.quantimetrix.com