



## PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> od společnosti Diazyme Laboratories, Inc.

Enzymový test pro kvantitativní stanovení aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> v lidské plazmě nebo séru

PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> se dodává hromadně a v následující konfiguraci soupravy:

REF	Velikost soupravy
10-0148	R1: 1 x 36 ml R2: 1 x 9 ml

Kalibrátory a kontroly se prodávají zvlášť.

Před použitím přípravku si kompletně přečtěte tuto příbalovku informací. Při provádění testů pečlivě dodržujte pokyny. Nedodržení pokynů může vést k nepřesným výsledkům.

### Určené použití

PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> je enzymový test pro *in vitro* kvantitativní stanovení aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> (fosfolipázy A2 asociované s lipoproteiny) v EDTA plazmě a séru na automatických analyzátoch klinické chemie. Aktivita Lp-PLA<sub>2</sub> se má používat ve spojení s klinickým hodnocením a posuzováním rizika pacienta jako pomůcka při předpovídání rizika ischemické choroby srdeční (ICHs) u pacientů bez předchozích kardiovaskulárních příhod.

### Shrnutí a vysvětlení

Lp-PLA<sub>2</sub> je na vápníku nezávislý enzym fosfolipáza A2, který je v lidské plazmě a séru spojen s lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) a v menší míře s lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) (Zalewski a MacPhee, 2005) a liší se od ostatních fosfolipáz, jako jsou cPLA<sub>2</sub> a sPLA<sub>2</sub> (Kudo a Murakami 2002, Burke a Dennis 2009). Lp-PLA<sub>2</sub> je produkována makrofágy a dalšími zánětlivými buňkami a je exprimována ve větších koncentracích v pokročilých aterosklerotických lézích než v časných stádiích (Hakkinen, Luoma et al. 1999, Kolodgie, Burke et al. 2006). Několik důkazů naznačuje, že oxidace LDL hraje rozhodující roli při rozvoji a progresi aterosklerózy (Witztum 1994, Chisolm a Steinberg 2000). Lp-PLA<sub>2</sub> se podílí na odbourávání oxidovaného LDL v cévní stěně tím, že hydrolyzuje oxidovaný fosfolipid, čímž vzniká lysofosfatidylcholin a oxidované volné mastné kyseliny, což jsou silně prozánětlivé produkty, které přispívají k tvorbě aterosklerotických plátů (Macphee, Moores et al. 1999, Macphee 2001, Suckling and Macphee 2002). Lp-PLA<sub>2</sub> vykazuje mírnou intra- a inter-individuální variabilitu, která odpovídá ostatním kardiovaskulárním lipidovým markerům a je podstatně méně variabilní než C-reaktivní protein s vysokou citlivostí (hs-CRP). Lp-PLA<sub>2</sub> navíc není zvýšený při systémových zánětlivých stavech a může být specifitější markerem vaskulárního zánětu. Relativně malá biologická variabilita Lp-PLA<sub>2</sub> a jeho vaskulární specifita mají význam pro detekci a monitorování kardiovaskulárního rizika (Wolfert, Kim et al. 2004, Lerman and McConnell 2008, Thompson, Gao et al. 2010).

### Princip testu

PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> je enzymový test. Lp-PLA<sub>2</sub> v plazmě nebo séru hydrolyzuje polohu sn-2 substrátu, 1-myristoyl-2-(4-nitrofenylsuccinyl) fosfatidylcholin, za vzniku barevného reakčního produktu, 4-nitrofenolu. Rychlost vytváření 4-nitrofenolu se měří

spektrofotometricky a aktivita Lp-PLA<sub>2</sub> se vypočítá z rychlosti změny absorbance. K vytvoření standardní křivky závislosti změny absorbance na hladině aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> v nmol/min/ml se použije sada pěti kalibrátorů Lp-PLA<sub>2</sub>, ze které se odvodí aktivita Lp-PLA<sub>2</sub> vzorku.

### Reagencie a materiály

PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> se dodává s:

REAGENCIE 1 : Pufr HEPES

REAGENCIE 2 : Citrátový pufr s Lp-PLA<sub>2</sub> substrátem, 1-myristoyl-2-(4-nitrofenylsuccinyl)fosfatidylcholin

### Požadované materiály, které nejsou součástí balení

1. Kalibrátory Diazyme pro testování aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> (100148B-CAL)
2. Kontroly Diazyme pro testování aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> (100148B-CON)
3. Automatizovaný analyzátor klinické chemie a návod k obsluze systému.
4. Aplikáční list analyzátoru specifický pro použitý analyzátor klinické chemie je k dispozici samostatně. Kontaktujte zákaznický servis společnosti Diazyme.

### Varování a opatření

**Ředění vzorků vede k chybným výsledkům. Vzorky nelze ředit při jakékoli hladině aktivity Lp-PLA<sub>2</sub>.**

Vzorky s hodnotami Lp-PLA<sub>2</sub> nad rozsahem měření by měly být hlášeny jako >382 nmol/min/ml. V klinické validační studii vykazovalo > 99 % subjektů hodnoty <382 nmol/min/ml.

**Hemolyzované vzorky interferují s testem a neměly by být testovány.** Vzorky, které jsou viditelně hemolyzované, by měly být znovu odebrány. Testování hemolyzovaných vzorků s > 1,0 mg/ml hemoglobinu může způsobit chybné výsledky.

**Přehození polohy reagiencí na analyzátoru vede k chybným výsledkům.** Dbejte na to, abyste reagienci R1 vložili na správné místo na analyzátoru, do polohy R1, a reagienci R2 do polohy R2.

- Pro diagnostické použití *in vitro*.
- POZOR: Federální zákon omezuje prodej tohoto prostředku na prodej lékařem nebo na jeho příkaz.
- Se všemi vzorky krve, kalibrátory a kontrolami zacházejte jako s potenciálně biologicky nebezpečným materiálem.
- Před analýzou vizuálně sledujte vzorky, zda nejsou nadměrně zakalené a zda se v nich netvoří sraženiny. Vzorky s nadměrným zákalem a sraženinami mohou ovlivnit výsledky a neměly by se používat.
- Reagencie likvidujte v souladu s příslušnými předpisy.
- Nepoužívejte reagencie, kalibrátory ani kontroly po datu expirace.

### Příprava a uchování reagiencí

Reagencie se dodávají připravené k použití. Odstraňte víčka reagiencí R1 a R2 a nasadte je na přístroj. Reagencie jsou v analyzátoru stabilní po dobu až 4 týdnů.



Informace specifické pro váš analyzátor naleznete v aplikačním listu konkrétního analyzátoru klinické chemie. Laboratoře by si měly ověřit stabilitu reagensů na palubě vlastního analyzátoru v typických laboratorních podmínkách.

### Odběr a skladování vzorků

- Odběr nalačno se nevyžaduje.
- Plnou krev odebírejte venepunkcí do:
  - zkumavek K2 EDTA pro odběr plazmy s gelem nebo bez gelu
  - zkumavek K3 EDTA pro odběr plazmy bez gelu
  - zkumavek pro odběr séra s gelem nebo bez gelu.
- Krev zpracujte standardními separačními postupy.
  - Plnou krev lze před separací uchovávat až 4 hodiny při 20-22 °C nebo až 30 hodin při 2-8 °C.
- Po centrifugaci:
  - zkontrolujte, zda nedošlo k hemolýze. Pokud je přítomna, vzorek vyhoďte a odeberte nový vzorek.
    - Vzorek lze testovat okamžitě nebo se před testováním může skladovat za následujících podmínek:
      - 24 hodin při teplotě 20-26°C
      - až 2 týdny při teplotě 2-8°C
      - až 18 měsíců při teplotě -20°C
      - až 2 roky při teplotě -70°C
  - Vzorky plazmy a séra lze po zmrazení při -70 °C nebo -20 °C až pětkrát rozmrazit.
  - Při přepravě vzorků je přepravujte v chladicích obalech při teplotě 2-8 °C.
- Se všemi vzorky manipulujte a likvidujte je s dodržением univerzálních opatření pro ochranu před biologickým nebezpečím.

### Postup testu

#### Kalibrace

Test se kalibruje pomocí pětibodové kalibrační křivky. Kalibrační křivka se generuje pomocí příslušného modelu přizpůsobení křivky, který je uveden v aplikačním listu analyzátoru. Ověřte kalibraci pomocí nejméně dvou hladin kontrol podle požadavků laboratoře. Proveďte rekalibraci a kontroly pro každou soupravu z nové šarže a poté každé 4 týdny pro soupravy ze stejné šarže. Pokud se kontroly dostanou mimo přijatelný rozsah laboratoře, proveďte rekalibraci podle potřeby až do data expirace otevřených reagensů.

#### Kontrola kvality

Testujte nejméně dvě hladiny vhodného materiálu pro kontrolu kvality minimálně jednou denně za každý den použití. Kromě toho provádějte kontroly po každé nové kalibraci. Doporučuje se, aby byly do každého běhu zahrnuty nízké a vysoké kontroly. Pokud kontrolní hodnoty nejsou v mezích přijatelnosti, test opakujte. V souladu s místními, státními a/nebo federálními předpisy nebo akreditačními požadavky může být nutné provést další testy kontroly kvality.

#### Příklad postupu testu

PLAC® test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> by měl být proveden s použitím vhodných nastavení pro použitý analyzátor. Podrobné pokyny a nastavení pro každý analyzátor naleznete v aplikačním listu analyzátoru pro konkrétní použitý automatizovaný analyzátor klinické chemie. Je popsán obecný postup testu

pro analyzátor Beckman Coulter (Olympus) AU400®.

Nastavení klinického analyzátoru Beckman Coulter (Olympus) AU400®

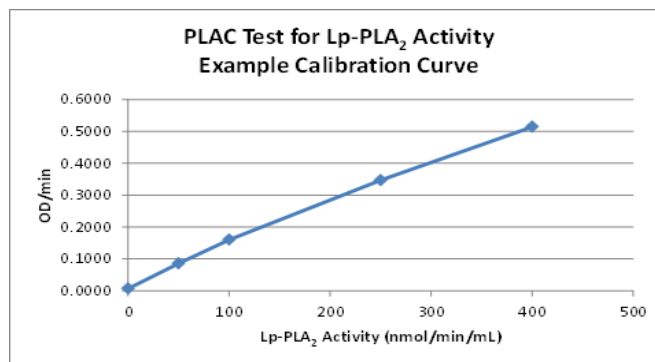
Kód testu	Výskyt
Doba testu	8,5 minut
Cyklus čtení	12 až 14
Objem vzorku	25 µl
Objem reagensie R1	100 µl reagensie R1 (poloha R1)
Objem reagensie R2	25 µl reagensie R2 (poloha R2)
Vlnová délka	1° 410 nm, 2° 520 nm
Metoda kalibrace	5-bodová křivka
Rozsah testu	10 až 382 nmol/min/ml

#### Poznámky k postupu

- Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila vhodnou frekvenci kalibrace. Nová kalibrační křivka by měla být generována minimálně se soupravou z nové šarže a poté každé 4 týdny pro soupravy ze stejné šarže. Proveďte kalibraci, když a pokud se kontroly dostanou mimo přijatelný rozsah.
  - Při skladování nepřehazujte uzávěry na roztocích reagensů, protože to může vést ke kontaminaci.
  - Všechny vzorky by měly být před testováním a zejména po rozmrazení skladovaných vzorků dobře promíchány. Lze použít vortexový mixér, je však třeba zabránit vzniku vzduchových bublin nebo zpěnění vzorků.
- V případě technických dotazů volejte 858-455-4768 nebo pište na e-mail: [sup- port@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com).

#### Příklad kalibrační křivky

Aktivita Lp-PLA <sub>2</sub> nmol/min/ml	Absorbance OD/min
0	0,0067
50	0,0857
100	0,1601
250	0,3469
400	0,5142



#### Omezení

- Spolehlivých, přesných a reprodukovatelných výsledků se dosáhne, pokud se test provádí s úplnou znalostí příbalového letáku a při dodržování správné laboratorní praxe.



- Stejně jako u každé analytické metody existuje možnost, že test mohou ovlivnit a falešné výsledky způsobit dílčí a/nebo netestované faktory (např. technické nebo procedurální). Výsledek je třeba posuzovat ve spojení s dalšími klinickými a analytickými metodami.

### Interpretace výsledků

PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> poskytuje informace o riziku ischemické choroby srdeční (ICHHS). V klinické validační studii (viz níže) byla celková populační míra výskytu příhod ICHHS v 5 letech sledování 4,1 % (95% CI 3,8 - 4,38 %), a to před zohledněním hodnot aktivity PLAC subjektu. Na základě hraniční hodnoty aktivity PLAC 225 nmol/min/ml byly subjekty rozděleny do skupiny s vysokou aktivitou PLAC (aktivita Lp-PLA<sub>2</sub> ≥ 225 nmol/min/ml) nebo do skupiny s nízkou aktivitou PLAC (aktivita Lp-PLA<sub>2</sub> < 225 nmol/min/ml). Byly zjištěny následující absolutní míry výskytu příhod ICHHS při pětiletém sledování (včetně 95% CI):

Míra výskytu ICHHS ve skupině s vysokou aktivitou PLAC: 7,0% [6,2% - 7,8%] Míra výskytu ICHHS ve skupině s nízkou aktivitou PLAC: 3,3% [3,0% - 3,6%]

Bylo zjištěno, že ve skupině s vysokou aktivitou PLAC byla pětiletá absolutní míra výskytu příhod ICHHS více než dvakrát vyšší než ve skupině s nízkou aktivitou PLAC. Rozdíl v absolutní míře výskytu mezi oběma skupinami aktivity PLAC je statisticky významný (p < 0,001) a vzhledem k přetrvávajícímu celoživotnímu riziku příhod ICHHS i klinicky významný. Zjištění, že jedinec bez předchozí anamnézy kardiovaskulárních příhod má vysokou aktivitu PLAC, naznačuje, že je vystaven vyššímu než průměrnému riziku. Stejně tak zjištění, že takový jedinec má nízkou aktivitu PLAC, naznačuje, že je vystaven nižšímu než průměrnému riziku.

Další analýzy ukázaly, že vysoká aktivita PLAC byla významným prediktorem příhod ICHHS ve srovnání s nízkou aktivitou PLAC, a to i po úpravě na další demografické a kardiovaskulární rizikové faktory včetně věku, rasy, pohlaví, kouření, hypertenze, diabetu, LDL-cholesterolu a HDL-cholesterolu.

Využití výsledků aktivity PLAC ve spojení s dalšími klinickými parametry (např. věk, délka života atd.) a tradičními rizikovými faktory (např. LDL-cholesterol, celkový cholesterol, krevní tlak atd.) může být využito ke zpřesnění hodnocení rizika v primární prevenci.

### Hraniční hodnota

Analyt	Jednotky	Snížené riziko	Zvýšené riziko
Aktivita Lp-PLA <sub>2</sub>	nmol/min/ml	< 225	≥ 225

### Výkonnostní charakteristiky

Výkonnostní charakteristiky byly stanoveny pomocí jednoho analyzátoru Beckman Coulter (Olympus) AU400. Výkonnostní charakteristiky naleznete v aplikačním listu konkrétního analyzátoru klinické chemie.

**Analytická citlivost** Analytická citlivost (mez stanovitelnosti) testu je 10 nmol/min/ml.

### Přesnost testu

Variabilita v rámci dávky a v rámci laboratoře byla stanovena testováním čtyř vzorků lidské plazmy a dvou kontrol s aktivitami Lp-PLA<sub>2</sub>

v rozsahu od 113 do 315 nmol/min/ml. Vzorky byly testovány duplikovaně, dvakrát denně, po dobu 20 dnů a se třemi šaržemi soupravy za použití jednoho přístroje. Celkové CV přesnosti pro každou šarži reagentie a vzorek činily <3%. Níže jsou pro každý testovaný vzorek shrnuty výsledky testu pro opakovatelnost v rámci dávky a celkovou laboratorní variabilitu, která zahrnuje složky variability v rámci dávky, mezi dávkami, mezi dny a mezi šaržemi:

Vzorek	Průměrná hodnota (nmol/min/ml) n=240	Opakovatelnost (v rámci dávky)		Přesnost v rámci laboratoře	
		SD	%CV	SD	%CV
Kontrola nízké aktivity	120,0	1,81	1,5%	3,40	2,8%
Kontrola vysoké aktivity	302,8	4,31	1,4%	8,24	2,7%
Plazma 1	113,0	1,41	1,2%	4,24	3,8%
Plazma 2	208,1	2,97	1,4%	6,94	3,3%
Plazma 3	244,4	3,67	1,5%	8,61	3,5%
Plazma 4	314,6	3,86	1,2%	9,79	3,1%

### Linearita

Bylo připraveno několik sérií ředění ze vzorků plazmy se známými vysokými a nízkými hladinami aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> a byly testovány se 3 šaržemi soupravy. V dynamickém rozsahu 6 až 382 nmol/min/ml vedla lineární regrese hladin aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> ke sklonům v rozmezí od 0,98 do 1,04, s intercepce v rozmezí od -0,40 do -0,03 nmol/min/ml a hodnotami R<sup>2</sup> v rozmezí od 0,995 do 0,999. Linearita byla prokázána v rozmezí 10 až 382 nmol/min/ml s odchylkou od linearity ≤ 10 %. Rozsah měření testu byl stanoven na 10 až 382 nmol/min/ml.

### Interferující látky

Endogenní látky byly titrovány do vzorků (nad a pod hraniční hodnotou Lp-PLA<sub>2</sub>) se známými hladinami jednotlivých endogenních látek a byly testovány. U následujících látek nebyla pozorována žádná výrazná interference:

Testování interference: Endogenní látky

Potenciální interferující látka	Vysoká koncentrace
Albumin, g/l	60
Nekonjugovaný bilirubin, mg/dl	20
Konjugovaný bilirubin, mg/dl	12
Cholesterol, mg/dl	300
Triglyceridy, mg/dl	400
Hemoglobin, mg/ml	1

Exogenní látky (běžné léky a léky na předpis) byly hodnoceny z hlediska interference v testu. Vzorky byly obohaceny o dvě hladiny potenciální interferující látky a testovány. U následujících látek nebyla při testovaných hladinách příměsí pozorována žádná významná interference.

Testování interference: Exogenní látky

Potenciální interferující látka	Nízká koncentrace v testu	Vysoká koncentrace v testu
Paracetamol, μmol/l	33	1324
Aspirin, μmol/l	720	3600
Atorvastatin, μmol/l	2	20
Difenhydramin, μmol/l	2	20
Fenofibrát, μmol/l	42	125



Lisinopril, $\mu\text{mol/l}$	0,25	0,74
Niacin, $\mu\text{mol/l}$	480	4800
Tolbutamid, $\mu\text{mol/l}$	400	2300
Warfarin, $\mu\text{mol/l}$	10	33
Metformin, $\mu\text{mol/l}$	31	310
Klopidogrel bisulfát, $\mu\text{mol/l}$	10	100
Vitamin C, $\mu\text{mol/l}$	14	342

### Zotavení

K ředidlu bez enzymů byla přidána různá množství roztoku s vysokou hladinou aktivity Lp-PLA<sub>2</sub>, aby bylo vytvořeno sedm hladin aktivity. Tyto roztoky s příměsí byly testovány pomocí 3 šarží reagensů a hladiny aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> byly poté porovnány s očekávanými hodnotami, což vedlo k získání sklonů v rozmezí od 0,99 do 1,10, s intercepce v rozmezí od -2,9 do 4,2 nmol/min/ml a R<sup>2</sup> v rozmezí od 0,997 do 1,000.

### Klinické studie

Klinická účinnost PLAC<sup>®</sup> testu aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> v populaci, pro kterou je určen, byla ověřena v klinické validační studii s využitím účastníků studie REGARDS (REasons for Geographic And Racial Differences in Stroke). Studie REGARDS, která byla zahájena v roce 2003, je aktivní observační populační studií, která pokračuje v longitudinálním sledování účastníků s ohledem na vývoj kardiovaskulárních příhod (ICHS a cévní mozková příhoda). Studie byla navržena tak, aby objasnila rasové a geografické rozdíly v kardiovaskulárních onemocněních v rámci celkové populace USA, a byla zaměřena na vyvážené zastoupení pohlaví a rasy a zahrnovala pouze účastníky černé a bílé pleti. Plán studie REGARDS, kritéria pro zařazení a vyloučení a výsledky ischemické choroby srdeční byly již dříve publikovány (Howard, Cushman et al. 2005, Safford, Brown et al. 2012). REGARDS je se svým celostátním rozsahem a celkovým počtem 30 183 zařazených účastníků největší podobnou studií, jakou kdy ve Spojených státech provedl Národní institut zdraví.

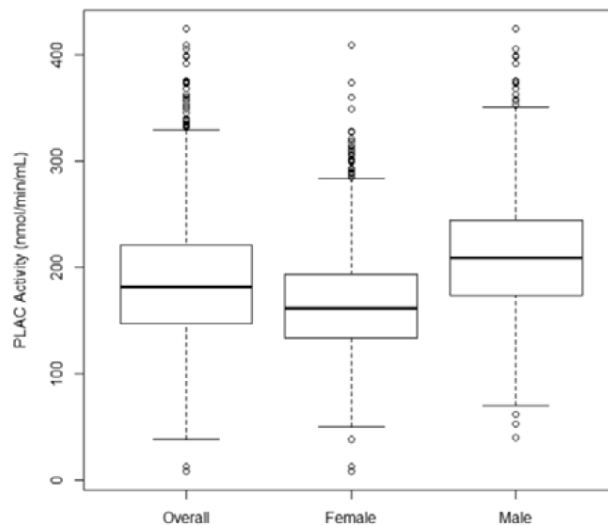
Primárním koncovým ukazatelem použitým v klinické validační studii pro PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> byl souhrn všech příhod ICHS, který zahrnoval 1) akutní infarkt myokardu, 2) koronární revaskularizaci a 3) úmrtí související s ICHS.

V klinické validační studii byl použit design případové kohortové studie (Prentice 1986). V souladu se zamýšleným použitím byly subjekty náhodně vybrány ze všech účastníků studie REGARDS, kteří neměli v anamnéze žádné kardiovaskulární příhody při základním zařazení (23 019 účastníků). Tato vybraná populace byla následně obohacena o všechny zbývající případy ICHS v rámci projektu REGARDS, které se vyskytly po stejném základním vyloučení.

Výsledná klinická validační studie představuje kohortu 4 598 subjektů, zahrnující celkem 933 případů a 3 665 kontrol. V populaci vybrané do vzorku se věk subjektů pohyboval od 45 do 92 let (medián 63 let), pohlaví bylo rozděleno na 41,7 % mužů a 58,3 % žen a rasa na 41,5 % černochů a 58,5 % bělochů. Statistické testy potvrdily, že kohorta případů je reprezentativní pro celou populaci REGARDS pro zamýšlené použití. Analýzy účinnosti, Kaplan-Meierovy analýzy a Coxovy modely proporcionálních rizik, byly všechny váženy tak, aby přizpůsobily klinickou validační studii základní prevalenci případů v mateřské studijní populaci (Barlow 1994).

Zmrazené vzorky EDTA plazmy byly testovány pomocí PLAC<sup>®</sup> testu aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> podle doporučeného protokolu pro manipulaci se vzorky a zjištěné hodnoty byly analyzovány. Medián sledování populace byl 5,3 roku od data odběru testovaných vzorků.

**Rozložení aktivity PLAC:** Hodnoty PLAC<sup>®</sup> testu aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> se u odebraných vzorků pohybovaly v rozmezí od minima 8 do maxima >382 nmol/min/ml s mediánem 178 nmol/min/ml (mezikvartilové rozpětí (IQR) 145 - 216 nmol/min/ml).

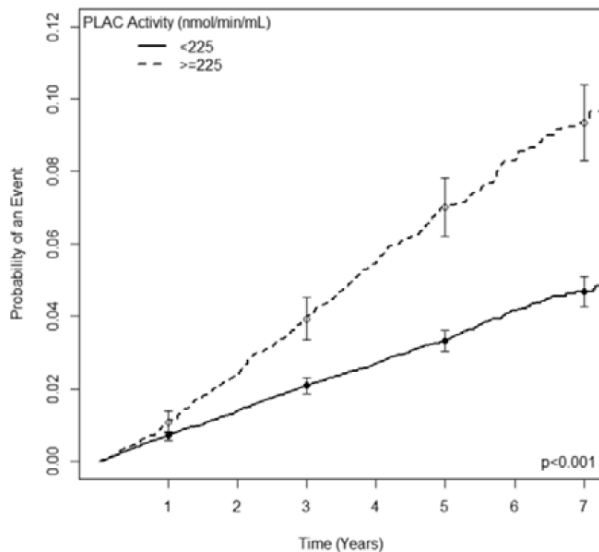


**Hraniční hodnota analýzy:** Pro analýzu účinnosti v rámci klinické validační studie byl na základě předchozích studií a publikací využívajících aktivitu PLAC v jiných nezávislých kohortách předem stanoven hraniční bod pro PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> 225 nmol/min/ml. Tento analytický hraniční bod byl ve studii použit jako binární klasifikátor, který rozdělil studijní populaci do skupin s nízkou (pod hraniční hodnotou) a vysokou (na nebo nad hraniční hodnotou) aktivitou PLAC.

**Kaplanovy-Meierovy analýzy:** V Kaplanově-Meierově analýze klinické validační studie bylo absolutní riziko příhod ICHS vyšší ve skupině s vysokou aktivitou PLAC (log-rank p-hodnota < 0,001), jak je vidět na obrázku níže. Absolutní riziko příhod ICHS obou skupin se oddělilo brzy a bylo konzistentně odlišné po jednom roce sledování a ve všech následujících časových bodech předem specifikovaných pro analýzu. Stejná analýza byla statisticky významná i v rámci každého samostatně analyzovaného pohlaví a rasy (log-rank p-hodnota < 0,001 pro každou analýzu).



**Rates of Total CHD Events**



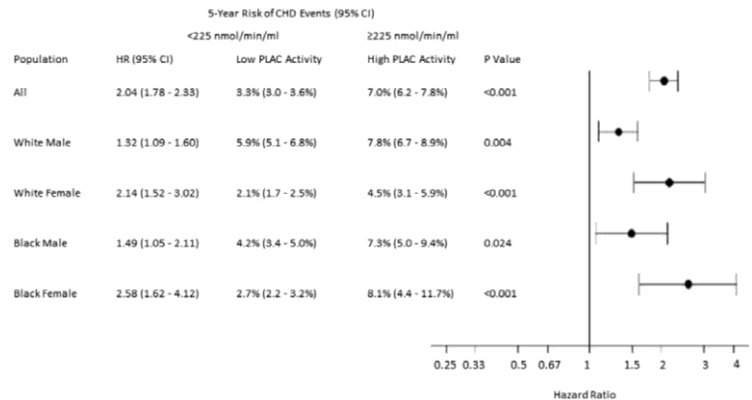
**Absolutní míra výskytu ICHS podle skupiny aktivit PLAC:** V následující tabulce je uvedeno absolutní riziko příhod ICHS v pětiletém sledování pro každou skupinu aktivity PLAC klinické validační studie. Studie ukázala, že absolutní riziko příhod ICHS ve skupině s vysokou aktivitou PLAC je 2,1krát vyšší než absolutní riziko příhod ICHS ve skupině s nízkou aktivitou PLAC.

**Pětileté riziko příhod srdečního selhání (Kaplan-Meierova analýza absolutního rizika/míry výskytu)**

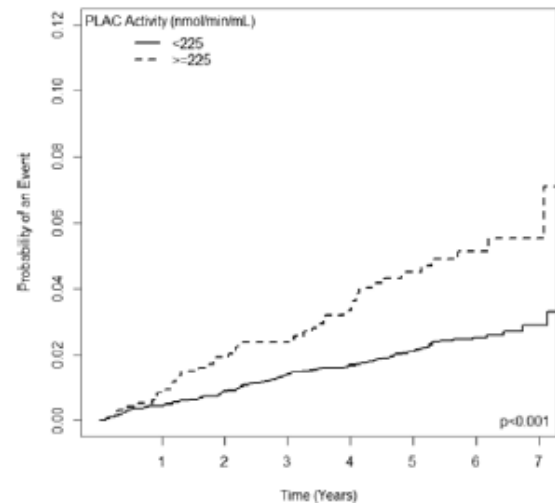
Populace	Absolutní riziko před testem	Absolutní riziko po testu Skupina s nízkou aktivitou (<225 nmol/min/ml)	Absolutní riziko po testu Skupina s vysokou aktivitou (≥225 nmol/min/ml)	Relativní riziko (vysoké/nízké)
Všichni	4,1%	3,3%	7,0%	2,1
Ženy	2,7%	2,4%	5,3%	2,2
Muži	6,1%	5,2%	7,7%	1,5
Běloši	4,4%	3,5%	6,9%	2,0
Černoši	3,6%	3,2%	7,6%	2,4

**Analýzy podskupin podle rasy a pohlaví:** V rámci klinické validační studie byla pro každou podskupinu podle rasy a pohlaví hodnocena také prediktivní síla PLAC® testu aktivity Lp-PLA<sub>2</sub>. Níže uvedený obrázek ukazuje prediktivní sílu testu aktivity PLAC v rámci každé podskupiny podle rasy a pohlaví pomocí univariačních Coxových proporcionálních rizikových modelů [skupina s vysokou a nízkou aktivitou PLAC], přičemž pro každou skupinu aktivity PLACy jsou uvedeny pětileté odhady Kaplanovy-Meierovy míry výskytu. Ukázalo se, že PLAC® test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> je statisticky významným prediktorem celkových příhod ICHS ve všech podskupinách, přičemž u žen byl pozorován konzistentně vyšší odhad srdečního onemocnění než u mužů, a to bez ohledu na rasu.

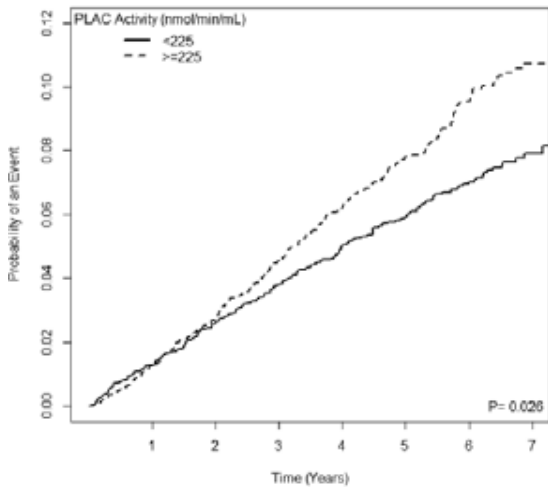
**Pětileté riziko příhod ICHS a Coxovy modely proporcionálního rizika podle podskupiny rasy a pohlaví**



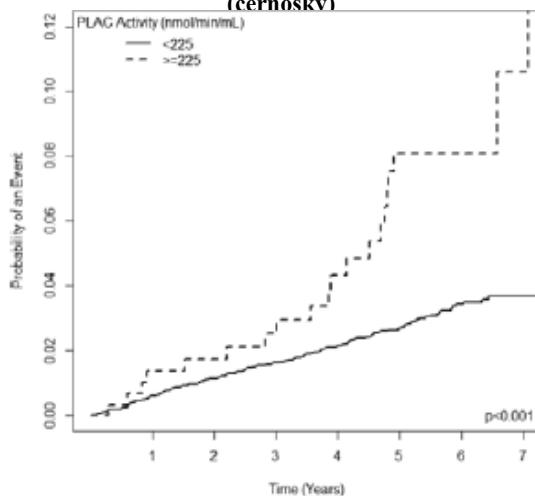
**Kaplanovy-Meierovy analýzy v každé podskupině rasy a pohlaví**  
**Míra celkového počtu příhod ICHS (bělošky)**



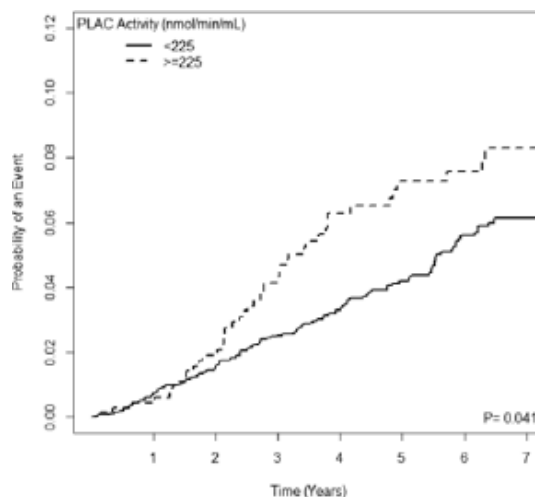
### Míra celkového počtu příhod ICHS (běloši)



### Míra celkového počtu příhod ICHS (černošky)



### Míra celkového počtu příhod ICHS (černoši)



**Coxův model proporcionálních rizik s úpravou rizika:** Coxův model proporcionálních rizik ukázal, že PLAC<sup>®</sup> test aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> je statisticky významným prediktorem celkových příhod ICHS při porovnání skupin s vysokou a nízkou aktivitou PLAC v klinické validační studii s plně upraveným poměrem rizik 1,54 (1,31 - 1,82, p < 0,001) po úpravě na věk, pohlaví, rasu, diabetes, hypertenzi, kouření, LDL a HDL.

**Sekundární složková analýza koncového bodu:** Prediktivní síla PLAC<sup>®</sup> testu aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> byla rovněž hodnocena pomocí Coxových modelů proporcionálních rizik pro každý z jednotlivých složkových koncových bodů klinické validační studie. Test PLAC na aktivitu Lp-PLA<sub>2</sub> se ukázal být konzistentním a statisticky významným prediktorem pro akutní infarkt myokardu, koronární revaskularizaci a úmrtí související s ICHS (p < 0,001 pro každou analýzu).

### Očekávané hodnoty

Vzorky EDTA-plazmy byly získány od populace 300 osob v klinicky relevantním věku 35 až 75 let (mediánský věk 57 let) ze dvou různých geografických lokalit. Od každého subjektu byly shromážděny informace týkající se věku, pohlaví a rasy. Nebyly získány žádné informace o zdravotním stavu. Testovaná populace zahrnovala 154 mužů a 146 žen s rasovým rozložením 38 % bělochů, 32 % černochů, 21 % hispánců a 9 % asiátů. Vzorky byly testovány PLAC<sup>®</sup> testem aktivity Lp-PLA<sub>2</sub> podle doporučeného protokolu pro zpracování vzorků a byly vypočítány očekávané hodnoty.

Rozložení hodnot aktivity PLAC pro tuto populaci je uvedeno v následující tabulce:

Percentil	Všichni (N=300) Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/ml)	Ženy (N=146) Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/ml)	Muži (N=154) Lp-PLA <sub>2</sub> (nmol/min/ml)
Min	50	50	70
2,5	84	74	92
5	94	86	102
25	137	130	149
33	148	139	155
50	167	154	176
67	196	179	204
75	211	200	219
95	276	264	295
97,5	303	300	329
99	369	339	>382
Max	>382	370	>382
<b>Stř. hodn.</b>	<b>176</b>	<b>166</b>	<b>186</b>

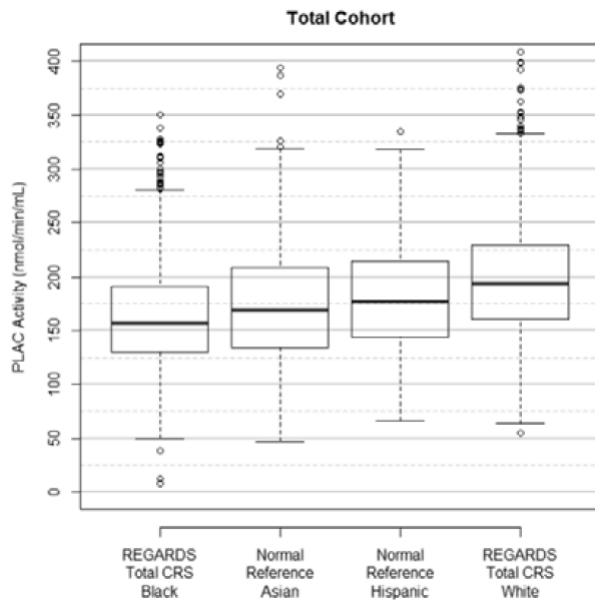
U jedinců se dvěma asijskými rodiči byla zjištěna nízkofrekvenční homozygotní nulová mutace (V279F), která vede k nízké hladině cirkulujícího Lp-PLA<sub>2</sub> (Jang, Waterworth et al. 2011). U těchto jedinců se obvykle vyskytují hodnoty aktivity Lp-PLA<sub>2</sub>, které jsou buď neměřitelné, nebo nižší než minimální populační hodnoty uvedené v předchozí tabulce.

Tato referenční rozmezí jsou uvedena pouze jako vodítka a nejsou určena k řešení „kritických hodnot“ nebo limitů pro lékařské rozhodnutí.





Výsledky ukazují, že každá klinická laboratoř může pozorovat medián a rozmezí hodnot aktivity Lp-PLA<sub>2</sub>, které závisí na testované populaci pacientů (např. pacienti, kteří jsou obecně více ohroženi kardiovaskulárním onemocněním, oproti pacientům s obecně nižším rizikem). Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční intervaly.

Rozložení hodnot aktivity PLAC pozorované v klinické validační studii, do které byli zařazeni černoši a běloši, zahrnuje hodnoty pozorované u jiných ras (testovaných v samostatné studii), jak ukazuje obrázek níže pro Asiaty (n = 285) a Hispánce (n = 199).



### Bezpečnostní informace o výrobku

 Sada kalibrátorů (1-5), nízká a vysoká kontrolní hladina R36 S25/26/36/37/39	 Pufr R1 R36 S25/26/36/37/39
--	---

R36	Dráždí oči
S25	Vyhnut se kontaktu s očima
S26	V případě zasažení očí okamžitě vypláchněte oči velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc
S36/37/39	Používejte vhodný ochranný oděv, rukavice, ochranu očí/obličej

### Odkazy

- Barlow, W. E. (1994). "Robust variance estimation for the case-cohort design." *Biometrics* **50**(4): 1064- 1072.
- Burke, J.E. and Dennis, E.A. (2009). "Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling." *J. Lipid Res* **50**: s237-42.
- Chisolm, G. M. and D. Steinberg (2000). "The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview." *Free Radic Biol Med* **28**(12): 1815-1826.

- CLSI (2008). "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guide- line--Third Edition." **CLSI Document EP28-A3C**.
- Hakkinen, T., J. S. Luoma, M. O. Hiltunen, C. H. Macphee, K. J. Milliner, L. Patel, S. Q. Rice, D. G. Tew, K. Karkola and S. Yla-Herttuala (1999). "Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **19**(12): 2909-2917.
- Howard, V. J., M. Cushman, L. Pulley, C. R. Gomez, R. C. Go, R. J. Prineas, A. Graham, C. S. Moy and G. Howard (2005). "The reasons for geographic and racial differences in stroke study: objectives and design." *Neuroepidemiology* **25**(3): 135-143.
- Jang, Y., D. Waterworth, J. E. Lee, K. Song, S. Kim, H. S. Kim, K. W. Park, H. J. Cho, I. Y. Oh, J. E. Park, B. S. Lee, H. J. Ku, D. J. Shin, J. H. Lee, S. H. Jee, B. G. Han, H. Y. Jang, E. Y. Cho, P. Vallance, J. Whittaker, L. Cardon and V. Mooser (2011). "Carriage of the V279F null allele within the gene encoding Lp-PLA(2) is protective from coronary artery disease in South Korean males." *PLoS One* **6**(4): e18208.
- Kolodgie, F. D., A. P. Burke, K. S. Skoriya, E. Ladich, R. Kutys, A. T. Makuria and R. Virmani (2006). "Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26**(11): 2523-2529.
- Kudo, I. and M. Murakami (2002). "Phospholipase A2 enzymes." *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **68-69**: 3-58.
- Lerman, A. and J. P. McConnell (2008). "Lipoprotein-associated phospholipase A2: a risk marker or a risk factor?" *Am J Cardiol* **101**(12A): 11F-22F.
- Macphee, C. H. (2001). "Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target." *Curr Opin Pharmacol* **1**(2): 121-125.
- Macphee, C. H., K. E. Moores, H. F. Boyd, D. Dhanak, R. J. Iffe, C. A. Leach, D. S. Leake, K. J. Milliner, R. A. Paterson, K. E. Suckling, D. G. Tew and D. M. Hickey (1999). "Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor." *Biochem J* **338** ( Pt 2): 479- 487.
- Prentice, R. L. (1986). "A Case-Cohort Design for Epidemiologic Cohort Studies and Disease Prevention Trials." *Biometrika* **73**(1): 1-11.
- Safford, M. M., T. M. Brown, P. M. Muntner, R. W. Durant, S. Glasser, J. H. Halanych, J. M. Shikany, R.J. Prineas, T. Samdarshi, V. A. Bittner, C. E. Lewis, C. Gamboa, M. Cushman, V. Howard and G. Howard (2012). "Association of race and sex with risk of incident acute coronary heart disease events." *JAMA* **308**(17): 1768-1774.
- Suckling, K. E. and C. H. Macphee (2002). "Lipoprotein-associated phospholipase A2: a target directed at the atherosclerotic plaque." *Expert Opin Ther Targets* **6**(3): 309- 314.
- Thompson, A., P. Gao, L. Orfei, S. Watson, E. Di Angelantonio, S. Kaptoge, C. Ballantyne, C. P. Cannon, M.



Diazyme Laboratories, Inc.  
12889 Gregg Court  
Poway, CA 92064, USA  
Tel: 858-455-4768 / Fax: 858-455-3701  
E-mail: [support@diazyme.com](mailto:support@diazyme.com)  
Website: [www.diazyme.com](http://www.diazyme.com)

- Witztum, J. L. (1994). "The oxidation hypothesis of atherosclerosis." Lancet **344**(8925): 793-795.
- Wolfert, R. L., N. W. Kim, R. G. Selby, M. J. Sarno, G. R. Warnick and K. Sudhir (2004). "Biological variability and specificity of lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA<sub>2</sub>), a novel marker of cardiovascular risk (abstract)." Circulation **110**(Supplement 3): 309.
- Zalewski A, Macphee C. (2005) "Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis." Arterioscler Thromb Vasc Biol **25**:923-931.

