

文章编号: 1001-764X(2013)05-324-04

临床血脂分析与应用新进展

李江¹, 鄢盛恺^{1,2} (1. 卫生部中日友好医院检验科, 北京 100029; 2. 北京豪迈生物工程有限公司, 北京 100028)

摘要: 血脂分析对动脉粥样硬化(As)和心脑血管病的危险评估和防治具有重要意义。近年来,我国血脂测定的标准化取得了长足进步,低密度脂蛋白颗粒(LDL-P)、小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)和载脂蛋白B(apo B)等指标对心血管病危险分层与血脂干预治疗临床获益的预测价值也越来越受到关注。临床血脂分析与应用的新进展给因脂质代谢异常所致的慢性非传染病患者的健康管理研究提供了新方向与新手段。

关键词: 血脂; 标准化; 低密度脂蛋白; 高密度脂蛋白; 载脂蛋白 B

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

众所周知,血脂分析已广泛应用于动脉粥样硬化(As)、心脑血管病的防治,且有助于研究糖尿病、肾病患者及绝经期妇女内分泌代谢的改变,对慢性非传染病患者的健康管理也具有重要意义。近年来,我国血脂测定的标准化取得了长足进展,世界各学会、协会或联盟等相继发布或出版了血脂异常防治指南,对血脂分析的方法学与临床应用进行了规范管理。低密度脂蛋白颗粒(LDL-P)、小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)和载脂蛋白B(apo B)等指标对心血管病危险分层与血脂干预治疗临床获益的预测价值也越来越受到学者关注。

1 血脂测定的标准化

早在 1958 年,美国疾病控制与预防中心(CDC)即提出总胆固醇(TC)和三酰甘油(TG)测定的标准化计划,并和世界卫生组织(WHO)合作,对美国和国际实验室进行脂类测定的质量评价。1985 年美国国家心肺血液研究所(NHLBI)提出了美国国家胆固醇教育计划(NCEP)。该计划的 4 个专家组中有一个是实验室标准化专家组,负责领导血脂标准化工作。经过近半个世纪的不断努力,血脂标准化工作已成为目前临床检验量值溯源方面的楷模^[1]。近些年,我国血脂测定的标准化取得了长足进展,在学习、引进、借鉴美国先进经验的基础上,卫生部北京医院老年医学研究所牵头的课题组通过自主研发,成功研制的血清 TC、总甘油、游离甘油和 TG 标准物质于 2006 年由国家质量监督检验检疫总局批准为国家一级标准物质(分别为 GBW 09145、GBW 09146、GBW 09147、GBW 09148)^[1]。特别值得一提

的是,他们采用自己建立的超速离心(UC)结合高效液相色谱(HPLC)法,成功研制出适用于常规分析系统校准的、接近患者血清基质的新鲜冰冻人血清 TC、总甘油、HDL-C 和 LDL-C 标准物质,并于 2010 年被批准成为国家一级标准物质(分别为 GBW 09178、GBW 09179、GBW 09180)^[2-3]。

载脂蛋白 AI(apo AI)、apo B 和脂蛋白(a)[Lp(a)]的结构和性质都非常复杂,其标准化难度也较大。目前国际影响较大的 apo AI、apo B 和 Lp(a) 标准化工作是由国际临床化学与检验医学联合会(IFCC)组织、美国西北脂类研究室(NWLRL)牵头的参考物质 SP1-01、SP3-07 和 Lp(a) PRM 研究。SP1-01、SP3-07 和 Lp(a) PRM 的定值方法为 CDC 的放射免疫测定法、NWRL 的免疫比浊和酶联免疫测定法,定值所用校准物(一级参考物质)为欧共体标准局的有证参考物质 CRM 393(纯化 apo AI)、密度 1.03~1.05 的纯化 LDL 和两种纯化 Lp(a)。SP1-01 和 SP3-07 已在 apo AI、apo B 标准化中发挥了较明显的作用,被接受为 WHO 国际参考试剂。Lp(a) PRM 用于 Lp(a) 标准化的效果还不理想,主要原因不在于 Lp(a) PRM 本身,而在于目前不少 Lp(a) 测定法对 Lp(a) 多态性敏感。其作为 WHO-IFCC 国际参考试剂的工作正在进行中,故目前仍推荐为参考物质^[3]。我国在这方面的工作尚处于起步阶段,还有许多研究工作有待开展。

2 LDL 亚型分析及 sdLDL-C 的直接测定

LDL 具有明显的异质性,根据普通非变性梯度凝胶电泳扫描方法可将 LDL 分成两种亚型:A 型即大而轻低密度脂蛋白(large buoyant LDL, lbLDL),B

作者简介: 李江,1979 年生,男,主管技师,硕士,主要从事临床生化检验研究。

通信作者: 鄢盛恺,研究员,教授,首席科学家,博士, E-mail: yanshengkai@sina.com。

型即 sdLDL。LDL 亚型分析方法有多种^[4], 目前主要的测定方法与代表的检测系统有: (1) 密度梯度超速离心法, 如美国 Atherotech Diagnostics 公司 Vertical Auto Profile (VAP) 胆固醇检验系统, 是一种扩展型脂质特征测定产品, 可报告 22 种血液胆固醇成分 (包括对非空腹 LDL 亚型及脂蛋白所有子类的直接测定)。 (2) 梯度凝胶电泳 (GGE), 如美国 Berkeley Heartlab 公司用 LDL 分段 GGE (LDL-S3GGE) 系统, 根据颗粒大小与形状将 LDL 分成 7 种亚型。 (3) 管式凝胶电泳 (TGE), 如美国 Quantimetrix 公司的 Lipoprint 脂蛋白分类检测系统采用管式聚丙烯酰胺凝胶电泳原理, 可完全分离鉴定所有脂蛋白 (含 7 种 LDL 亚型, 10 种 HDL 亚型)。这三类分析系统均有一定的临床应用前景, 其他检测方法包括核磁共振光谱法、分子筛色谱法、电子显微镜技术、动态光散射法、微流控芯片毛细管电泳法等, 但由于需要特殊实验设备, 不适用于临床常规检测。

由日本昭和大学 Hirano 教授^[5]等研发的肝素镁沉淀法为 sdLDL-C 的常规检测创造了条件。他利用肝素镁可选择性沉淀密度小于 1.044 g/mL 脂蛋白的特点, 分离得到密度大于 1.044 g/mL 的 sdLDL 和 HDL 上清液, 通过自动化分析仪选择性测定上清液中 sdLDL 和 sdLDL-apo B 含量, 进而定量评价 sdLDL; 其测得的 sdLDL-C 和 sdLDL-apo B 含量与超速离心所测结果具有显著相关性。在此基础上, 日本电化生研株式会社推出的 sdLDL-C 均相酶法试剂盒^[6], 可用自动生化分析仪直接定量检测 sdLDL-C, 使临床常规分析 sdLDL 成为可能。

该试剂盒采用对 sdLDL 组分有选择性的表面活性剂和磷脂酶及可解离 lbLDL 等其他脂蛋白的表面活性剂和磷脂酶。在第一步反应中, 非 sdLDL 包括乳糜微粒 (CM)、极低密度脂蛋白 (VLDL)、中间密度脂蛋白 (IDL)、lbLDL 和 HDL 可以与试剂 1 中的表面活性剂和神经磷脂酶 (SPC) 反应。非 sdLDL-C 释放的胆固醇在酶的作用下氧化水解。胆固醇更易被胆固醇酯酶 (CHE) 水解和胆固醇氧化酶 (CO) 氧化, 产生的过氧化氢最终被过氧化物酶分解为水和氧气; 第二步反应中, 试剂 2 中的另一种表面活性剂仅从 sdLDL-C 颗粒中释放胆固醇, 产生的过氧化氢与 4-氨基安替比林在过氧化物酶的作用下引发显色反应。将此均相法与 LDL 亚组分超速离心法和 sdLDL-C 肝素镁沉淀法进行了比对, 均具有良好的相关性。

由于 sdLDL 易被氧化, 促使泡沫细胞形成, 作

为冠心病的一个重要危险因素, 促进 As 的发生发展, 国内外学者也从流行病学、前瞻性研究、回顾性研究、临床治疗等多个方面对其临床价值进行了探讨, 而像均相酶法这样简单易行的检测方法的建立必将促进 sdLDL 研究和应用的进一步深入。

3 LDL-P 的检测与应用

因血浆中某一特定大小脂蛋白其脂质甲基有独特的核磁共振 (NMR) 光谱信号, 近年来国外已研发出用 NMR 光谱测定脂蛋白颗粒大小及浓度的仪器, 如美国 LipoScience 公司研制的 Vantera 临床分析仪及配套的 NMR LipoProfile test 刚通过美国 FDA 认可 (2012 年 9 月 5 日), 是全球首台将 NMR 技术用于临床血脂分析与研究的实验室检测系统。通过测量脂质甲基 NMR 振幅, 可以得出不同大小的脂蛋白亚组分的浓度。然后用每一亚组颗粒直径总和乘以某一颗粒相对质量百分率 (由其脂质甲基 NMR 信号振幅获得) 就可得出脂蛋白颗粒的大小。NMR 可以同时测定 VLDL、IDL、LDL 和 HDL 颗粒的脂蛋白浓度及其亚组分进行定量分析, 用脂蛋白浓度 (颗粒数/L) 或 VLDL、LDL 和 HDL 每个颗粒的平均大小表示。

直接对比不同 LDL 颗粒特征测定方法的研究较少。一个小型研究对比了 NMR 和 GGE 测量的 LDL 大小, 两者相关系数是 0.86。另外一项 324 人参与的研究得出 GGE 和 NMR 的 Spearman 相关系数为 0.4, 机会调整 κ 统计量为 0.3。Ensign 等^[3]研究发现, GGE 和 NMR 的一致率为 70%。然而, 对比 GGE、NMR、VAP 和管式凝胶电泳这 4 种方法, 测得的 LDL 亚型一致率仅为 8%。再加上脂蛋白高级亚组分类检测 (ALTs) 各采用不同原理对脂蛋白进行分类, 应该建立一个统一的标准, 才能在临床实践中得到更广泛的应用^[7-8]。

LDL-P 的测定弥补了传统 LDL-C 测定中的不足, 其提供的信息能帮助临床医师制定更个性化的降低 LDL 的治疗方案并加以细化, 尤其是可以减少低水平 LDL-C 患者的心血管残留风险^[9-10]。Cromwell 等^[8]的研究表明, 2 型糖尿病 (T2DM) 患者 LDL-C 与 LDL-P 的变化存在显著的异质性, 患者 LDL-C 即使获得较好控制, 但 LDL-P 浓度仍旧居高不下, 带来很高的残留风险。对于心血管代谢高危个体而言, LDL-P 提供了与 LDL-C 不同的风险信息。来自 Framingham、女性健康研究等数据的分析显示, LDL-P 对未来心血管事件的预测价值优于

LDL-C。如依据 LDL-C 和 LDL-P 水平对 Framingham 研究的受试者进行分层,无论 LDL-C 水平如何低于 LDL-P,无事件生存率较高,而高 LDL-P,无事件生存率较低,充分支持上述结论。因此,对许多患者来说,标准胆固醇检验(LDL-C)也许不足以正确反映 LDL 全貌,达到 LDL-C 建议目标的患者未必相应达到 LDL-P 的低水平,因此可能需进一步降低 LDL^[9]。

4 调脂治疗的靶标:LDL-C,non-HDL-C 还是 apo B?

2011 年欧洲心脏病学会(ESC)/欧洲动脉粥样硬化学会(EAS)首次携手发布欧洲首个《欧洲血脂异常管理指南》^[11],充分体现继 2004 年美国 NCEP 第 3 版成人治疗指南(ATP III)更新后 7 年间血脂领域的新进展及血脂管理理念的新突破。该指南与其他指南相比,除进一步强调了降低 LDL-C 水平作为血脂管理的首要靶标的重要性外,并对心血管疾病极高危患者设定了更严格的血脂控制目标值,推荐 LDL-C < 1.81 mmol/L (70 mg/dL) 或 LDL-C 降幅 ≥ 50%;同时也提出 non-HDL-C 及 apo B 为应考虑的调脂目标,尤其对合并混合型血脂异常、糖尿病或慢性肾脏疾病的患者,应将 non-HDL-C [LDL-C 相应目标值 + 0.80 mmol/L (300 mg/L)] 和 apo B [极高危 0.80 g/L (80 mg/dL)], 高危 1.00 g/L (100 mg/dL)] 列为次要目标。尽管低 HDL-C 和 CVD 风险相关,但目前对于如何有效升高 HDL-C 及其治疗目标值均不明确,尚不支持将其作为干预靶点。目前具有颇多争议的是 apo B (或 LDL-P) 浓度是否比 non-HDL-C 对心血管疾病风险有更高的预测价值^[12-13]。

non-HDL-C 即 TC 减去 HDL-C,实际上是所有致 As 脂蛋白的总和,包括了 LDL 和 TG 的因素。non-HDL-C 反映了目前公认的所有致 As 脂蛋白颗粒的胆固醇水平,且 non-HDL-C 预测冠心病事件的能力优于 LDL-C。此外,non-HDL-C 具有一个非常重要的优势,在常规血脂检查后即可获得,其正常水平与降脂治疗目标值明确。多项研究充分证实其在心血管病危险分层和降脂治疗中临床价值,能更全面反映包括 LDL、HDL、IDL 及 VLDL 等脂蛋白代谢变化。临床医生熟悉并容易理解,临床检测方便易行,不增加额外花费。

apo B 是致 As 脂蛋白的主要载脂蛋白,除 HDL 以外,各种脂蛋白 VLDL、IDL 及 LDL 颗粒中均基本只含有一个 apo B 分子,因此,apo B 的数量可以准确反映血浆中致 As 脂蛋白颗粒数量。作为心血管病

危险因素,apo B 至少等同于 LDL-C。一项纳入 175 553 例平均年龄 47 岁的健康人群进行的前瞻性观察,平均随访达 5.5 年,结果显示,不论性别,apo B 水平均与冠心病事件显著相关,其预测心肌梗死能力优于 LDL-C。从检测方法来讲,apo B 检测与 LDL-C 相比更易于标准化,也是目前国内外推荐其作为临床常规检测指标的原因之一。当然,由于单一的 LDL-C 水平可能造成不同类型 LDL 人群心血管疾病危险评估的差异,给医生的诊断和治疗带来误导,而考虑到 apo B 及 sdLDL 等检测而增加的患者额外花费,更多人倾向于推广 non-HDL-C 的临床应用。因此,在有能力检测 apo B 的条件下,LDL-C 和 apo B 双重达标控制可能是更好的选择。

5 血脂检验报告单的改革

《欧洲血脂异常管理指南》明确提出,血脂达标值要因人而异,“一刀切”的“合适范围值”有可能掩盖卒中、冠心病、心肌梗死等危险因素导致罹患或者再次复发心肌梗死、卒中等心血管病的概率。我国情况也是如此,调脂治疗达标率很不理想,《中国成人血脂异常防治指南》^[14] (以下简称“指南”)并未在临床实际工作中得到很好的实施,实践和“指南”之间存在很大的差距。我国患者血脂治疗达标率低可能由多种因素造成,血脂检验报告单仅给出统一的参考值,这可能是危险分层不能顺利实施的原因之一。一方面,部分医生习惯于根据检验报告单的上下箭头进行结构判断及处治;另一方面,医疗保险对他汀类药物治疗费用的报销也以检验报告结果为依据;此外,患者有可能根据检验报告单质疑医生的处方,甚至自行将他汀药减量或停药。因此,现行血脂检验报告单“一刀切”的形式与“指南”提出的危险分层管理策略不相适应。

为改善这一状况,近两年作者牵头组织进行了“临床血脂检验报告单改革试点”。项目采取自身前后对照的实验研究,以问卷调查形式,在报告单改革前、后对中日友好医院调脂治疗相关科室医生(143 人)进行普查,闭卷考核其对“指南”相关知识的掌握程度,同时了解医生对报告单有用性的评价。对相应的门诊患者进行抽样调查,了解医生处方率变化情况。报告单改革后,医务人员对“指南”知识相关题目回答正确值有所提高,95.5% 的医生认为改革后的报告单优于改革前,但报告单改革前、后调脂治疗药物处方率变化差异无统计学意义,可能与项目试点的时间稍短有关^[15-16]。可喜的是,在各级

学会、协会及企业的共同努力下,血脂检验报告单的改革经验已被全国诸多省市学习改进,在更广泛的范围推广应用。

综上所述,随着各种技术相继应用于血脂、脂蛋白及载脂蛋白的分析与研究,这些检验新技术为血脂分析及其临床应用提供了新的研究方法与平台,也极大地促进了临床血脂分析与应用的不断改进和发展,也推动了血脂异常及相关的慢性病管理理念的更新及水平的提高。新技术和新应用相辅相成,加之基础、检验与临床的有机结合,一定会使血脂分析应用及其管理更为系统化、标准化与科学化。

6 参考文献

- [1] 鄢盛恺,陈文祥. 临床血脂测定的方法学与标准化进展[J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(11): 1050-1053.
- [2] 董军,李红霞,满永,等. 血清总胆固醇、总甘油、游离甘油和甘油三酯标准物质的研制[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 31(3): 276-279.
- [3] 李红霞,国汉邦,周伟燕,等. 血清高、低密度脂蛋白胆固醇标准物质的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(4): 10-13.
- [4] Ensign W, Hill N, Heward CB. Disparate LDL phenotypic classification among 4 different methods assessing LDL particle characteristics[J]. Clin Chem, 2006, 52(9): 1722-1727.
- [5] Hirano T, Ito Y, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles[J]. J Atheroscler Thromb, 2005, 12(2): 67-72.
- [6] Ito Y, Fujimura M, Ohta M, et al. Development of a homogeneous assay for measurement of small dense LDL cholesterol[J]. Clin Chem, 2011, 57(1): 57-65.
- [7] Mallol R, Rodríguez MA, Heras M, et al. Particle size measurement of lipoprotein fractions using diffusion-ordered NMR spectroscopy[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 402(7): 2407-2415.
- [8] Cromwell WC, Otvos JD, Keyes MJ, et al. LDL particle number and risk of future cardiovascular disease in the Framingham Offspring Study-implications for LDL management[J]. J Clin Lipidology, 2007, 1(6): 583-592.
- [9] Otvos JD, Mora S, Shalurova I, et al. Clinical implications of discordance between low-density lipoprotein cholesterol and particle number[J]. J Clin Lipidology, 2011, 5(2): 105-113.
- [10] Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, et al. Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus statement from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation[J]. Diabetes Care, 2008, 31(4): 811-822.
- [11] Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS)[J]. Eur Heart J, 2011, 32(14): 1769-1818.
- [12] Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, et al. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis[J]. JAMA, 2012, 307(12): 1302-1309.
- [13] Contois JH, McConnell JP, Sethi AA, et al. Apolipoprotein B and cardiovascular disease risk: position statement from the AACC Lipoproteins and Vascular Diseases Division Working Group on Best Practices[J]. Clin Chem, 2009, 55(3): 407-419.
- [14] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390-419.
- [15] 鄢盛恺,柯元南,李坤坤,等. 相关科室血脂异常患者对检验报告单有用性评价及调脂治疗相关知识调查[J]. 北京大学学报(医学版), 2010, 42(6): 675-680.
- [16] 李佳慧,姜红,孙星河,等. 临床血脂检验报告单改革对相关科室医生调脂治疗知识和行为的影响效果评价[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(4): 318-322.

(收稿日期:2012-08-27)

(本文编辑:王海燕,陈维忠)