

[文章编号] 1007-3949(2007)15-07-0539-01

• 研究论文摘要 •

超速离心高效液相色谱准确测定血清脂蛋白(a)胆固醇

国汉邦, 董 军, 李红霞, 满 永, 王 抒, 陈文祥

(卫生部北京老年医学研究所, 北京市 100730)

[关键词] 生物化学; 脂蛋白/分类; 脂蛋白(a); 超速离心法; 高效液相色谱法

脂蛋白(a)是由类似于LDL的脂蛋白和载脂蛋白(a)组成的一种特殊脂蛋白,脂蛋白(a)水平升高是心血管病的重要危险因素。目前绝大多数脂蛋白(a)测定方法是以载脂蛋白(a)为抗原、用免疫法测定脂蛋白(a)总质量。但是,由于脂蛋白(a)中载脂蛋白(a)分子大小的高度不一致性、脂蛋白(a)中蛋白组成的不同、载脂蛋白(a)与纤溶酶原的同源性等,脂蛋白(a)的免疫测定存在很多问题,实验室内结果可比性差,标准化难度很大。测定脂蛋白(a)胆固醇[脂蛋白(a)胆固醇]水平不仅可以避免免疫测定中由于脂蛋白(a)分子大小不等所造成的定量不准确,而且,由于各脂蛋白浓度都以胆固醇表示,可以将脂蛋白(a)与其他脂蛋白进行直接对比,可能优于脂蛋白(a)质量测定。

测定脂蛋白(a)胆固醇需首先分离脂蛋白(a)。近年发展的分离方法有植物凝集素法、琼脂糖凝胶电泳法、超速离心结合琼脂糖凝胶电泳法等,其共同的缺点是操作烦琐,技术要求高,重现性差。超速离心法是各类脂蛋白的定义方法,在分析化学上可能也是最可靠的脂蛋白分离方法,是一种物理分离方法,影响因素最少。但由于脂蛋白(a)在较大密度范围内均有分布,与HDL和LDL都有重叠,很难进行直接分离。

本研究用脯氨酸解离脂蛋白(a)或载脂蛋白(a)与 β 脂蛋白的可能非共价键结合,用2-巯基乙醇(ME)解离脂蛋白(a),使成为不含载脂蛋白(a)的脂蛋白[脂蛋白(α)]。分别用多密度超速离心和序列超速离心的方法证明了脂蛋白(a)解离前后存在明显密度分界区域,脂蛋白(a)的密度(脯氨酸存在下) > 1.044 ,而脂蛋白(a)的密度 < 1.036 。根据这一特点,用超速离心分离脂蛋白(a),高效液相色谱(HPLC)测定脂蛋白(a)胆固醇,建立脂蛋白(a)胆固醇的准确测定方法。

首先血清溶液在脯氨酸存在下, 1.044 的背景密度超速离心,脂蛋白(a)分布在离心管的底部;然后用含ME的密度液将底部组分的密度调节至 1.040 ,再次超速离心,则解离后的脂蛋白(a)($d < 1.036$)漂浮到顶部组分,HPLC测定顶部组分胆固醇即为脂蛋白(a)胆固醇。

本法测定脂蛋白(a)胆固醇的批内和总变异系数分别为 $1.84\% \sim 2.17\%$ 和 $2.85\% \sim 4.29\%$ 。测定脂蛋白(a)胆固醇与免疫比浊法测定的脂蛋白(a)质量高度相关($r = 0.9095$),脂蛋白(a)胆固醇平均约占脂蛋白(a)质量的 24% 。脂蛋白(a)胆固醇测定的最低检测限为 0.03 mmol/L (1.2 mg/dL),约相当于脂蛋白(a)质量 5 mg/dL ,对于心血管病危险分析具有足够的灵敏度。

总之,本研究建立了新的血清脂蛋白(a)胆固醇测定方法,用超速离心直接分离脂蛋白(a),HPLC精密测定脂蛋白(a)胆固醇。脂蛋白(a)胆固醇测定背景低,方法灵敏,精密度好,可望在心血管病危险因素研究及脂蛋白(a)测定标准化中发挥作用。

(此文编辑 胡必利)