

[文章编号] 1007-3949(2007)15-07-0541-01

• 研究论文摘要 •

高密度脂蛋白胆固醇酯化速率测定方法的建立

彭涛, 董军, 国汉邦, 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] 临床诊断学; 卵磷脂胆固醇酰基转移酶; 高密度脂蛋白胆固醇酯化速率; 同位素示踪法; 高效液相色谱法

背景与目的 卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)是循环中胆固醇酯化的主要酶,其功能和活性一直受到重视。研究LCAT活性的方法有多种,其中一种是测定高密度脂蛋白胆固醇酯化速率(FERHDL),目前FERHDL的测定方法是Dobiasova等建立的同位素示踪法。本研究采用高效液相色谱法测定血清FERHDL。

方法 首先向人新鲜全血样本中加入5,5'-二硫双-2-硝基苯甲酸(DTNB),抑制LCAT活性,使血中的LCAT活性离子后仍然维持在体内水平。离心分离血清,制备高密度脂蛋白(HDL)。将HDL样品分别在ME存在和不存在下37℃同时温育1h,高效液相色谱测定两种条件下的HDL游离胆固醇(HDLFC),计算FERHDL, $FERHDL = [HDLFC_{ME(-)} - HDLFC_{ME(+)}] / HDLFC_{ME(-)} \times 100\%$ 。为确定DTNB能完全抑制血中LCAT活性的浓度,向全血中加入不同浓度(0、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0及8.0 mmol/L)的DTNB,测定温育后HDLFC。结果发现,当DTNB ≥ 0.5 mmol/L时,HDLFC不再下降,LCAT活性被完全抑制。实验中选择DTNB浓度1 mmol/L。FERHDL测定之前,用还原剂2-巯基乙醇(ME)解除DTNB对LCAT的抑制,恢复LCAT活性。在全血中DTNB浓度1 mmol/L的条件下,分别向HDL中加入不同浓度的ME(0、0.25、0.5、1、2、4、8及16 mmol/L),观察温育后HDLFC的变化。

结果 ME使温育后HDLFC下降,当ME > 4 mmol/L时,LCAT的活性被完全恢复,HDLFC保持稳定。用三位志愿者血样本考查方法的精密度,测定FERHDL 4次,每次重复测定4份。FERHDL批内变异系数分别为0.95%~2.1%,总变异系数为1.59%~3.74%。

结论 建立了高效液相色谱测定FERHDL的方法。所建方法与同位素示踪法相比安全、简单、费用低廉,且精密度良好,为FERHDL的进一步研究打下了基础,有望在心血管疾病的研究中发挥重要作用。

(此文编辑 文玉珊)