

ПРЯМЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИДОВ ВЫСОКОЙ И НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ . ПРИНЦИПЫ И АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ .

Р. Брайнек – биохимическая лаборатория Университета св.Анны, Брно, Чехия

Т.Ю.Трубникова – кафедра клинической лабораторной диагностики РМАПО

Определение фракций холестерина в составе липопротеидов низкой (ХС-ЛПНП) и высокой (ХС-ЛПВП) плотности является важнейшим диагностическим критерием склонности к развитию атеросклероза и его осложнений: инфаркта миокарда, инсульта и окклюзии магистральных сосудов.

В настоящее время доступным для КДЛ являются измерения ХС-ЛПВП на основе ферментативных методов определения холестерина после осаждения преципитатов ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП, образующихся под влиянием осадителей (Mg, гепарин, декстрансульфаты, фосфовольфрамовая кислота). Затем, на основании определения общего холестерина (ХС), общих триглицеридов (ТГ) и ХС-ЛПВП по формуле Фридвальда рассчитывается ХС-ЛПНП. Однако расчетный метод имеет ряд ограничений: не позволяет оценивать уровень ХС-ЛПНП при гипертриглицеридемии; в присутствии хиломикрон; дает ложные результаты при перераспределении ТГ и ХС в частицах липопротеидов при первичных дисбеталипопротеинемиях и при вторичных нарушениях (сахарный диабет, цирроз печени, заболевания почек, гемодиализ); характеризуется низкой воспроизводимостью, что не дает возможности оценивать нерезкие изменения фракций холестерина при лечении больных.

Другим способом оценки фракций холестерина является электрофорез. Однако, этот метод практически не доступен для большинства КДЛ, дает информацию только об относительном распределении фракций липопротеидов и не позволяет количественно оценить уровень ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП.

Фирма Плива-Лахема предлагает новые наборы для прямого измерения ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП.

Определение ХС-ЛПВП основано на следующем принципе: антитела к бета-липопротеинам человека, содержащиеся в реактиве 1, образуют иммунные комплексы со всеми липопротеидами, за исключением ХС-ЛПВП. Реактив 2 блокирует участие липопротеидов комплексов в ферментативных реакциях. В то же время холестеринэстераза (ХЭ) и холестериноксидаза (ХО) из реактива 2, взаимодействует только с ХС-ЛПВП, образуемая гидроперекись меняет интенсивность окраски хромогена пропорционально количеству ХС-ЛПВП. Реакция стабильна, происходит в одной кювете, не требует центрифугирования, легко поддается автоматизации.

Определение ХС-ЛПНП основано на следующем подходе: на первом этапе “протективный” реактив защищает избирательно ХС-ЛПНП от ферментативного окисления ферментами ХЭ и ХО. Происходит полное окисление холестерина фракций ЛПВП, ЛПОНП и хиломикрон без образования окрашенного продукта. На втором этапе “протективный” реактив разрушается каталазой и сохраненный ХС-ЛПНП окисляется с образованием окрашенного продукта.

Нами проверены аналитические характеристики новых методов определения ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП. (Таблица 1)

Исследования проводились с использованием наборов LDL CHOLESTEROL DIRECT LIQUVID (LDL CHOL D L) и HDL CHOLESTEROL DIRECT LIQUVID (HDL CHOL D L) на автоматических биохимических анализаторах “Хитачи 911” (фирма РОШ) и “EOS-BRAVO” (фирма Хоспитекс). Использованы калибраторы BIO-LA-TEST: LDL CHOLESTEROL CALIBRATOR (LDL CHOL KAL), HDL CHOLESTEROL CALIBRATOR (HDL CHOL KAL) и контрольные сыворотки LYONORM LIPID HUM N (LYO LIP HUM N - норма) , LYONORM LIPID HUM P (LYO LIP HUM P- патология).

Параметры	Расчет по формуле Фридвальда	Прямой метод LDL CHOL D L		Центрифугирование		Прямой метод HDL CHOL D L	
		норма	патол.	норма	патол.	норма	патол.
Смещение от целевого значения, %	10,3	6,49	4,71	14,2	10,4	11,0	7,39
Сходимость (CV % в серии измерений)	2,38	0,56	1,23	8,39	11,0	1,21	1,37
Воспроизводимость (CV % измерения день ото дня)	3,24	0,63	1,45	9,28	12,3	2,33	5,76

Таблица 1 Аналитические характеристики определений ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП прямым и многоэтапными методами.

Таким образом, прямые методы измерения ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП характеризуются высокой сходимостью в серии измерений и воспроизводимостью день ото дня. Полученные результаты имеют лучшие аналитические параметры, чем предельно допустимые значения смещения аналитических вариаций, установленных законодательно (Таблица 2).

	LDL CHOL D L	Предельно допустимые значения. (Приказ МЗ РФ №45 от 7.02.2000)	HDL CHOL D L	Предельно допустимые значения (Приказ №45 МЗ РФ)
Коэффициент аналитической вариации (CV, %)	0,36	4,30	2,33	3,75
Смещение аналитических вариаций (B, %)	3,04	3,75	6,04	6,17

Таблица 2. Коэффициенты сходимости.

Коэффициенты регрессионных зависимостей близки к 1, смещение близко к 0, зависимость характеризуется высоким коэффициентом корреляции.

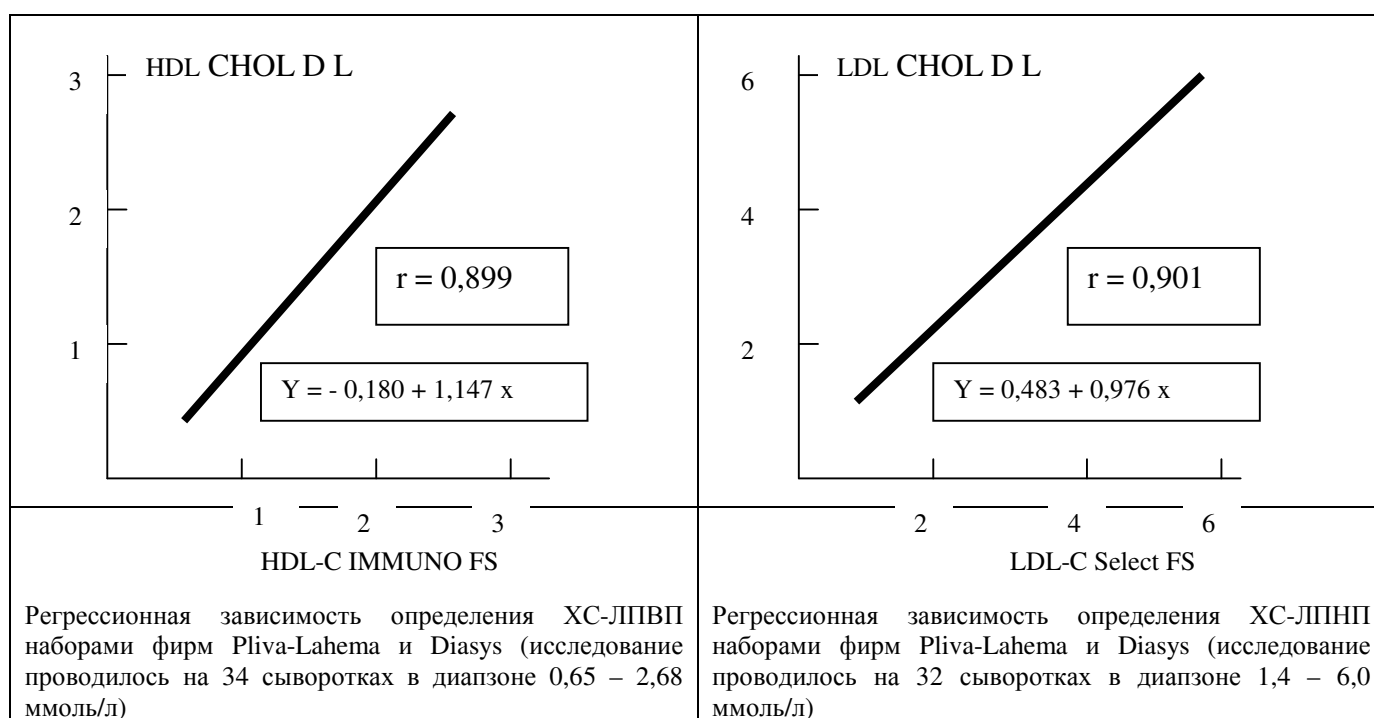


График 1. Линейный диапазон наборов LDL CHOL D L и HDL CHOL D L сравнивали с наборами фирм Disys соответственно LDL-C Select FS и HDL-C IMMUNO FS

Диапазон линейности позволяет применять наборы для исследования больных как с гипотак и с гиперхолестеринемиями разных типов, эффективно контролировать гиполипидемическую терапию.

На результаты анализов не оказывают влияния гипертриглицеридемия и присутствие в сыворотке хиломикронов. В случае содержания ТГ более чем 13,7 ммоль/л рекомендуется разведение сыворотки, что практически позволяет проводить измерения при любом уровне ТГ.

Критическим, для широкого применения прямого определения ХС-ЛПНП в КДЛ могут быть экономические факторы. Тем не менее, подсчет затрат, на определение общего холестерина, ТГ и ХС-ЛПВП ферментативными методами с учетом накладных расходов доказывает, что стоимость определения ХС-ЛПНП прямым и расчетным методами близки.

Следовательно, при применении прямых методов исследования ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП существенно улучшается правильность, диагностическая эффективность исследований, сокращаются трудозатраты, клиницист быстро получает результат.

Литература:

1. Приказ МЗ РФ № 45 от 7.02.2000, приложение 3.
2. Clin. Lab., 1999., 45., p.617-622. LDL Cholesterol: Don' t guss. Measure it. A critical examination of the Friedewald formula.