

效[J]. 中国药物经济学, 2015, 10(10): 73-75.

[11] 张丙义, 张婷婷. 经穴体外反搏对冠心病稳定型心绞痛患者血清 hs-CRP、血脂的影响[J]. 中医学报, 2014, 29(1): 145-147.

[12] 杜廷海, 程江涛, 陈彦. 经穴体外反搏治疗冠心病心绞痛的理论探讨[J]. 中国社区医师(医学专业), 2011, 13(30): 210-211.

[13] 胡毅林. 慢性心力衰竭中医临床路径研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.

[14] 陈光瑞, 王朝亮, 姚建斌, 等. 中医药参与冠心病支架术后心脏康复 48 例临床观察[J]. 安徽医药, 2014, 18(4): 751-753.

[15] 宁余音, 钟美容, 邓秋兰, 等. 链式中医护理模式促进冠心病介入治疗患者康复的随机对照研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(29): 3281-3284.

[16] 张振华, 王克勤, 王昊, 等. 中医心理学对“意志”的认识[J]. 中医杂志, 2013, 54(4): 295-298.

[17] 宫秀丽, 蒋戈利, 刘文红, 等. 冠心病冠状动脉支架术后 35 例心脏康复加用中药治疗效果观察[J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(2): 20-23.

[18] 郝世杰, 毕鸿雁. “心主神明”在中医心脏康复中的研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(8): 39-43.

[19] 杜渐, 王昊, 邵祺祺, 等. “心主神明”内涵探析——“总统魂魄, 兼赅意志”[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(1): 11-13.

[20] 高积慧, 江建锋. 关于构建中医心脏康复单元的思考[J]. 新中医, 2016, 48(2): 3-5.

(收稿日期: 2018-08-11 修回日期: 2018-12-18)

• 综述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.040

血清维生素 D 检测方法研究进展

谢 荣, 陆 娣, 倪君君 综述, 郑春梅[△] 审核

(北京和合医学诊断技术股份有限公司, 北京 101111)

关键词: 维生素 D; 免疫分析法; 色谱分析法
中图分类号: R446.1 **文献标志码:** A

文章编号: 1672-9455(2019)06-0849-05

维生素 D 是一种重要的脂溶性维生素, 为固醇类衍生物, 主要存在形式为维生素 D₂ (麦角钙化醇) 和维生素 D₃ (胆钙化醇)。维生素 D 的主要食物来源有动物肝脏、鱼肝油、蛋黄等, 除食物性来源外, 人体皮下储存的 7-脱氢胆固醇, 受紫外线的照射后, 可转变为维生素 D₃^[1]。

维生素 D 是人体必需的营养元素, 其经典作用是促进肠道对钙磷的吸收以及肾小管内钙的重吸收, 非经典作用包括对机体多种组织细胞增殖、分化和功能的调节^[2]。维生素 D 的缺乏已经日渐成为一个全球性的健康问题, 据估算, 全球约有 10 亿人缺乏维生素 D。越来越多的研究表明, 维生素 D 不仅在人体的钙磷代谢和骨骼钙化过程中发挥着重要的作用, 维生素 D 的缺乏会导致佝偻病、软骨病、骨质疏松等疾病, 而心脏病、癌症、糖尿病、高血压、心血管等疾病的形成都与缺乏维生素 D 密切相关^[3-5]。随着对维生素 D 与骨骼及非骨骼系统疾病相关性的深入研究, 人们对维生素 D 与健康的重要性的认知, 维生素 D 的检测需求也迅速增加, 因此维生素 D 水平的精准、快速、高效的测定对于维生素 D 相关疾病的诊断、治疗和预防十分重要。

1 国内外维生素 D 检测方法发展现状

维生素 D 由食物摄取或阳光照射产生后, 通过血

液循环, 首先进入肝脏, 在肝脏 25-羟化酶的作用下转化为 25 羟维生素 D [25-(OH)D], 25-(OH)D 再转运到肾脏, 经过第 2 次羟化形成 1, 25 二羟维生素 D [1, 25-(OH)₂D]^[6]。25-(OH)D 是维生素 D 在体内的主要存在形式, 1, 25-(OH)₂D 则被认为是维生素 D 在体内的主要活性形式。由于 25-(OH)D 在血液中的浓度较高, 半衰期长 [维生素 D 半衰期约 24 h, 25-(OH)D 半衰期约 3 周, 1, 25-(OH)₂D 半衰期约 4 h], 更加稳定, 且其浓度不受血液中钙磷的浓度和甲状旁腺激素 (PTH) 调节的影响, 因此常被作为评价维生素 D 营养水平的指标。

根据检测原理, 测定血清 25-(OH)D 的方法可以分为 3 类: 竞争蛋白结合分析法 (CPBA)、免疫分析法、色谱分析法^[7-8]。其中 CPBA 是于 1971 年提出的最早测定 25-(OH)D 的方法。此方法以维生素 D 结合蛋白 (VDBP) 为主要结合剂来测定 25-(OH)D 和 1, 25-(OH)₂D 的水平, 但此法存在交叉反应且操作繁琐, 不宜大量样品的测定, 不能满足高通量检测的需求, 目前已逐渐被临床实验室淘汰。现常用的方法为免疫分析法和色谱分析法。

1.1 免疫分析法 免疫分析法主要利用抗原抗体结合反应的原理, 所有的 25-(OH)D 代谢产物及类似物都能发生反应, 因此不能单独测定 25-(OH)D₂ 和 25-

[△] 通信作者, E-mail: zhengchunmei@labhh.com。

(OH) D_3 的浓度。免疫分析法主要包括:放射免疫法(RIA)、化学发光法免疫法(CLIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)、电化学发光免疫法(ECLIA)和全自动生化法^[9]。

1.1.1 RIA 放射免疫法应用广泛,于1985年首次提出,是最经典的测定25-(OH) D 水平的方法。该方法使用¹²⁵I标记的25-(OH) D 作为示踪剂,与待测样品中的25-(OH) D 竞争性结合抗体。RIA法首先由DiaSorin公司商业化并沿用至今,目前常用的商业化RIA试剂盒主要来自DiaSorin公司和英国IDS公司。DiaSorin于2000年提出了全自动化学发光免疫分析系统LIAISON[®],可检测25-(OH) D 总的浓度,是目前临床诊断应用广泛的一款检测25-(OH) D 的系统。

RIA法对仪器要求较低,检测方法方便、准确度高,兼具灵敏度高和特异性强的优点。但是RIA法不能区分检测25-(OH) D_2 和25-(OH) D_3 ,且存在放射性污染,对实验人员和环境都有危害,放射性废弃物的处理也十分复杂。

1.1.2 ELISA法 ELISA法是将可溶性的抗原或抗体结合到固相载体上,利用抗原抗体结合专一性进行免疫反应生成抗原抗体复合物,洗去其他杂质及未被结合的抗原或抗体,最后根据酶催化底物生成的有色产物颜色的深浅进行定性或定量分析^[10]。ELISA法容易实现自动化操作,在节省人力、减少污染方面具有一定的优势,适合于在常规临床实验室开展。

张天勇等^[11]采用国产ELISA试剂盒检测25-(OH) D_3 的浓度,并与高效液相色谱法进行比较。ELISA法批内和批间的变异系数(CV)值分别为9.8%和13.2%,测得试剂盒可报告的最小检测范围为10 μ g/L。两种检测系统25-(OH) D_3 的测定结果存在差异,差异有统计学意义($P < 0.05$),两者相关显著,相关系数为0.880($P = 0.000$)。高玲娟等^[12]对IDS公司生产的25-(OH) D 检测试剂盒(ELISA法)进行了性能验证,参照美国临床和实验室标准化协会(NCCLS)的文件标准,从精密度、准确度、线性范围、检出限、干扰性试验5个方面对试剂盒进行性能验证,结果显示,试剂盒测定25-(OH) D 批内与批间不精密度均低于5%,符合精密度试验要求;定值质控品相对偏差 $\leq 8\%$,符合试验准确度要求;最低检出限为5 nmol/L,可用于临床实验室维生素D水平的评估。

但由于所有维生素D羟基化合物都能发生抗原-抗体结合反应,所以该法只能测定25-(OH) D 总的浓度,不能区分检测25-(OH) D_2 和25-(OH) D_3 。ELISA法的另一缺点是其基质敏感性,容易与其他非目标化合物发生交叉反应,降低检测的特异性,且酶促反应的结果受到反应温度、反应时间及加样准确性等因素的影响,易造成批间和批内的CV相对较大^[13]。

1.1.3 CLIA CLIA将化学发光测定技术与免疫技术相结合,使用连接有异鲁米诺或吖啶酯衍生物的25-(OH) D 与待检测样品中25-(OH) D 竞争性结合包被了25-(OH) D 特异性抗体的磁珠,反应终止后加入激发剂,使用光电倍增管检测产生的化学荧光信号^[14]。由于其操作简单、快速、无同位素污染且容易实现自动化等优点,已有数家厂商开发出化学发光自动免疫分析仪和相关试剂盒^[15-16]。目前市场上应用较为广泛的有IDS-iSYS化学发光法自动分析仪、DiaSorin LIAISON[®]化学发光免疫检测系统、Abbott i2000型全自动化学发光免疫分析仪等。

PAL等^[17]比较了液相色谱法(HPLC)、CLIA和酶免疫法(EIA)测定血中维生素D的水平,检测结果显示,CLIA法与HPLC法结果相关性($r = 0.978$, $P < 0.001$)比酶免疫法($r = 0.970$, $P < 0.001$)好,CLIA法可以代替HPLC法作为临床诊断的方法。

CLIA法的特异性强、准确度高,自动化程度高、可控性强,适用于大规模的维生素D营养状况的监测,但CLIA法需要配备特定的自动免疫分析仪,仪器价格昂贵,且只能测出25-(OH) D 总的浓度。

1.1.4 ECLIA法 ECLIA法是将免疫技术、电化学发光标记技术与链霉亲和素生物包被技术结合在一起,通过在电极表面进行电化学反应而发出光,常用的化学发光剂为三联吡啶钌 $[Ru(bpy)_3^{2+}]$,电子供体为三丙胺(TPA)。市面上电化学发光免疫仪器以罗氏为代表。ECLIA法使用生物素标记的25-(OH) D 与样品中25-(OH) D 竞争性结合钌标记的维生素D结合蛋白后,用包被了链霉亲和素的磁珠将生物素标记的25-(OH) D 和钌标记的维生素D结合蛋白复合体固定,光电倍增管检测钌的电发光信号强度,回算样品中的25-(OH) D 浓度。

何国坚等^[18]对罗氏E170电化学发光免疫分析系统检测血清维生素D试剂盒进行评估。评估结果表明,电化学发光免疫分析法检测维生素D具有较好的稳定性,该实验检出限为3.0 ng/mL,两种不同浓度的定值质控血清在准确度评估中相对偏差均 $< 8\%$,批内、批间CV均小于5%,线性良好,抗干扰能力均符合临床检验要求。向波等^[19]对罗氏公司E170全自动电化学发光免疫分析仪测定25-(OH) D 技术进行性能认证,结果符合国家标准文件《临床实验室检验项目参考区间的制定(WS/T402-2012)》。ECLIA法具有高灵敏度,干扰因素少,能自动化批量操作,但其仪器价格昂贵,只能用于检测25-(OH) D 总量。

1.1.5 全自动生化法 全自动生化分析法利用全自动生化仪,根据光电比色原理来测定血液中25-(OH) D 的总浓度。由于其操作简单、测量速度快、准确性

较高、消耗试剂量小,在各级医院得到广泛应用。其缺点是仅能检测 25-(OH)D 的总浓度,精密度和特异性稍差,仪器间的性能差异大,容易造成样品间交叉污染^[20]。目前关于全自动生化法的报道较少。

1.2 色谱分析法 由于色谱、质谱分析技术灵敏度高、特异性强,且能够同时检测多种物质,近年来被广泛地应用于生物医学研究领域、临床诊断领域。基于色谱、质谱技术的维生素 D 的检测方法有:HPLC、气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)。其中 GC-MS/MS 太复杂,大多数实验室并没有采用此法作为日常分析方法。

1.2.1 HPLC 早在 20 世纪 70 年代,研究者便提出了使用 HPLC 测定血液中 25-(OH)D 浓度。最初采用正相色谱分离技术,利用硅胶柱分离,随着技术的发展进步,现多使用反向色谱,色谱柱多选用 C18,常用紫外检测器在 265 nm 检测。HPLC 方法的特点在于能够有效地分离 25-(OH)D₂ 和 25-(OH)D₃,同时检测两者的浓度水平,分析速度快、稳定性、重复性好,准确度高。HPLC 法的主要缺点是样品需求量大,样品处理复杂,通量小,仪器设备花费较高且需要专业人员操作。现已逐渐被 LC-MS/MS 代替。

1.2.2 LC-MS/MS LC-MS/MS 结合了液相色谱的高分离性和质谱仪很强的分离鉴定的能力,被国际公认为检测的“金标准”。LC-MS/MS 能够有效地避免免疫法存在的交叉反应、25-(OH)D₂ 和 25-(OH)D₃ 识别率不一致等问题,且能够同时分别测定 25-(OH)D₂ 和 25-(OH)D₃ 的浓度。由于其高灵敏度、高特异性和高精度等特点,被越来越多的临床实验室所接受和应用。

DE KONING 等^[21] 比较了 DiaSorin LIAISON[®] 和 LC-MS/MS 两种方法检测 25-(OH)D₂, DiaSorin 化学发光法与 LC-MS/MS 法相比,对 25-(OH)D₂ 的检测率不准,会导致较高的缺乏率和不足率(36% vs. 9%)。LC-MS/MS 法表现出更高的精准性。

赵平等^[22] 建立了一种用 LC-MS/MS 检测血清 25-(OH)D 水平的方法并进行了基本性能评价,结果显示 25-(OH)D₂ 和 25-(OH)D₃ 内标峰面积比与对应的水平线性相关系数均大于 0.995,检出限(LOD)均为 1.0 ng/mL,25-(OH)D₂ 批内和总 CV 分别为 3.01%~5.23% 和 3.45%~8.72%,25-(OH)D₃ 批内和总 CV 分别 1.78%~3.43% 和 2.19%~4.16%,准确度分别为 105.4% 和 98.0%~104.9%,加样回收率分别为 99.67%~103.92% 和 98.72%~104.4%。结果说明利用 LC-MS/MS 方法检测血清中 25-(OH)D₂ 和 25-(OH)D₃ 灵敏度高,准确性好,可用于常规临床评价维生素 D 水平。

虽然 LC-MS/MS 相比较于免疫法有着出色的特

异性和准确率,样品需求量小,但仪器操作复杂,对检验人员的专业度要求高,仪器昂贵,一般普通的医院检验室无法达到要求。

1.3 维生素 D 其他代谢产物的检测 维生素 D 在体内的代谢产物除了 25-(OH)D,还有许多其他相似的代谢产物,如 24,25-(OH)₂-D₃、24,25-(OH)₂-D₃、3-epi-25-(OH)-D₃、1,25-(OH)₂-D₂、1,25-(OH)₂-D₃ 等^[23]。随着对维生素 D 及其代谢产物的深入研究和生理生化活性的进一步认知,越来越多的人认识到 25-(OH)D 以外的其他代谢产物的营养水平检测的重要性。1,25-(OH)₂-D 作为维生素 D 在体内的主要活性形式,除了与骨骼疾病相关,近年来的研究还发现与自身免疫性疾病、糖尿病、癌症、心血管疾病、高血压及一系列妊娠并发症都有密切关系^[24]。血清 1,25-(OH)₂-D 水平的检测十分有利于对疾病的诊断、预后和监测。但由于 1,25-(OH)₂-D 的血清浓度非常低、半衰期短,且受到甲状旁腺激素、钙磷离子调节的影响,在检测上存在一定的难度。

SPANNAUS 等^[25] 分别用 DiaSorin LIAISON[®] 和 IDS iSYS 两种全自动免疫分析系统检测血清中 1,25-(OH)₂-D 的浓度并与 LC-MS/MS 法相比较。DiaSorin LIAISON[®] 和 IDS iSYS 两种免疫方法检测结果的不精确率分别为 3.1%~5.2% 和 7.1%~20.1%。与 LC-MS/MS 法结果比较, DiaSorin LIAISON[®] 和 IDS iSYS 检测结果的相关系数分别为 0.852、0.967, DiaSorin LIAISON[®] 免疫系统表现出更好的相关性。FANG 等^[26] 通过优化 LC-MS/MS 方法,创建了一种快速、简单、准确的检测血清中 1,25-(OH)₂-D₂ 和 1,25-(OH)₂-D₃ 的方法,测定范围均在 10.0~500.0 pg/mL 范围内,1,25-(OH)₂-D₂ 和 1,25-(OH)₂-D₃ 总 CV 分别为 7.29% 和 6.86%,实验结果证明该方法是一种实用、灵敏、特异性良好的能够检测 1,25-(OH)₂-D 的方法。

随着色谱质谱技术的不断进步,也有研究者创立了利用色谱质谱技术一次分析出多种维生素 D 代谢产物的方法。SATO 等^[27] 开发和验证了一种利用 LC-MS/MS 同时测定血清中 4 种维生素 D 代谢产物 [25-(OH)-D₃, 3-epi-25(OH)-D₃, 25-(OH)-D₂ 和 24,25-(OH)₂-D₃] 的方法,检测下限分别为 0.091、0.020、0.013 和 0.024 ng/mL。检测结果不受样品反复冻融、抗凝剂存在等因素的影响。这种高通量 LC-MS/MS 方法检测 4 种维生素代谢产物样品需求量仅 20 μL。

2 维生素 D 检测方法的总结与分析

目前常用的维生素 D 检测方法主要包括基于色谱的 HPLC、LC-MS/MS 和基于抗原抗体结合的免疫学方法。由于不同的方法均有各自的优劣势,各临床

实验室采用的检测方法亦不相同。其中 ELISA 是最经典的测定维生素 D 水平的方法,在大规模筛查维生素 D 水平上仍有不可替代的优势,ELISA 法需要的酶标仪多数临床医院均有配备,因此仍被大多数医院所使用。全自动生化分析法使用全自动生化仪,操作简便、测量迅速、准确度高、消耗试剂量小,适用于各级医院临床常规监测维生素 D 水平。LC-MS/MS 由于其非常高的灵敏度、特异性和准确性被公认为检测的金标准,也被作为其他检测方法验证校对的参考依据。但仪器昂贵、对操作人员专业度要求较高,且需要自行开发检测方法,目前国内大多数医院没有配备相关仪器和专业人员的能力,限制了该方法在临床的应用推广。相反,国内第三方医学独立实验室由于仪器平台和专业操作人员的优势,可以实现对维生素 D 的批量、快速检测。

虽然目前维生素 D 检测方法众多,但对于血清 25-(OH)-D 浓度的检测目前仍存在一定技术挑战。包括:(1)血液中的维生素 D 通常与结合蛋白(VDBP)结合,样品前期处理需要将其从血清中的 VDBP 中解离下来;(2)血液中的 VDBP、3-epi-25-(OH)D₃ 等干扰,会造成维生素 D 检测结果的假阳性,导致误诊;(3)不同诊断试剂公司开发的试剂盒以及各实验室自行研发和验证的 LC-MS/MS 检测方法无统一标准。因此,维生素 D 检测方法的标准化十分重要。

为了减少维生素 D 不同检测方法之间的差异性,使患者诊断结果具有一致性,2010 年美国疾病与预防控制中心(CDC)成立维生素 D 标准化项目(VVD-SCP)和基于准确度的定量保障项目(ABQAP)。分别针对第三方独立医学实验室和普通的医学检测实验室、研究实验室对 25-(OH)D 检测结果进行评估。

综上所述,维生素 D 检测方法还有很大的优化和进步空间,维生素 D 检测方法的标准化问题亟待解决。就现阶段而言,在检测血清 25-(OH)D 时,免疫法可能受基质和 25-(OH)D 其他代谢物的影响较大,而 LC-MS/MS 受基质和 25-(OH)D 内源性待测物的影响较小,可靠性更好。

参考文献

- [1] BIKLE D D. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications[J]. *Chem Biol*, 2014, 21(3): 319-329.
- [2] 谢忠建,程群,丁悦. 维生素 D 代谢和作用[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2018, 11(1): 26-33.
- [3] SHRIHARI T G. Vitamin D role in prevention of cancer: overview[J]. *Indian J Med Pediatr Oncol*, 2018, 39(1): 75.
- [4] WEI Z, YOSHIHARA E, HE N, et al. Vitamin D Switches BAF Complexes to Protect β Cells[J]. *Cell*, 2018, 173(5): 1135-1149.
- [5] 张滨梅,陈延军. 维生素 D 与心血管疾病相关性的研究进展[J]. *心肺血管病杂志*, 2016, 35(12): 996-998.
- [6] CHRISTAKOS S, DHAWAN P, VERSTUYF A, et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects[J]. *Physiol Rev*, 2016, 96(1): 365-408.
- [7] 云春风,陈竞,柳桢,等. 血清中 25(OH)D 检测方法的研究进展[J]. *卫生研究*, 2014, 43(4): 661-665.
- [8] ARNESON W L, ARNESON D L. Current Methods for Routine Clinical Laboratory Testing of Vitamin D Levels [J]. *Lab Med*, 2013, 44(1): e38-e42.
- [9] 顿中华. 维生素 D 检测方法的研究进展[J]. *华夏医学*, 2016, 29(4): 171-176.
- [10] GRANGE R D, THOMPSON J P, LAMBERT D G. Radioimmunoassay, enzyme and non-enzyme-based immunoassays[J]. *Brit J Anaesthesia*, 2014, 112(2): 213.
- [11] 张天勇,周雪莲. 高效液相色谱法和国产酶联免疫吸附法试剂盒检测 25-羟基维生素 D₃ 的一致性比较[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(26): 4335-4336.
- [12] 高玲娟,陈晨. 25-羟基维生素 D 检测试剂盒的性能验证 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(21): 3640-3642.
- [13] 冯海英,王颖,林丽荣,等. 两种 25-羟基维生素 D 测定方法的评价[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2013, 34(14): 2101.
- [14] 云春风,陈竞,柳桢,等. 血清中 25(OH)D 检测方法的研究进展[J]. *卫生研究*, 2014, 43(4): 661-665.
- [15] 李光. 免疫化学发光法、酶联免疫吸附法测定 25 羟基维生素 D 在骨质疏松诊断中的应用[J]. *实用老年医学*, 2016, 30(10): 865-866.
- [16] 张旋,赵志敏,阳红梅. 自动化学发光免疫分析仪检测血清 25-羟基维生素 D 的性能评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(6): 846-848.
- [17] PAL M, DATTA S, PRADHAN A K, et al. Comparison between different methods of estimation of vitamin D[J]. *Adv Biol Chem*, 2013, 3(5): 501-504.
- [18] 何国坚,肖庆,韦庆文. 电化学发光免疫分析法检测维生素 D 试剂盒性能验证[J]. *中国医药指南*, 2014, 12(23): 76-77.
- [19] 向波,刘忠民,覃润东. 电化学发光技术测定 25 羟基维生素 D 的性能验证[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(6): 786-788.
- [20] 宋爱华. 全自动生化法检测 25-羟基维生素 D 的方法学评估[J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(10): 1051.
- [21] DE KONING L, AL-TURKMANI M R, BERG A H, et al. Variation in clinical vitamin D status by DiaSorin Liaison and LC-MS/MS in the presence of elevated 25-OH vitamin D₂ [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 415: 54-58.
- [22] 赵平,周慧,张曼. HPLC-MS/MS 检测血清 25-羟基维生素 D 方法的建立和基本性能评价[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(2): 180-183.
- [23] DELUCA H F. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites[J]. *Bonekey Rep*, 2014, 3: 479.

[24] GIL Á, PLAZA-DIAZ J, MESA M D. Vitamin D; Classic and Novel Actions[J]. Ann Nutr Metab, 2018, 72(2): 87-95.

[25] SPANAUS K, VON E A. Evaluation of two fully automated immunoassay based tests for the measurement of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D in human serum and comparison with LC-MS/MS[J]. Clin Chem Lab Med, 2017, 55(9): 1305-1314.

[26] FANG H, YU S, CHENG Q, et al. Determination of 1, 25-dihydroxyvitamin D₂, and 1, 25-dihydroxyvitamin D₃,

in human serum using liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1027: 19-26.

[27] SATOH M, ISHIGE T, OGAWA S, et al. Development and validation of the simultaneous measurement of four vitamin D metabolites in serum by LC-MS/MS for clinical laboratory applications[J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408(27): 7617-7627.

(收稿日期: 2018-07-29 修回日期: 2018-10-18)

• 综 述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.06.041

缺血性脑卒中的血液学标志物研究进展*

马 蓉¹综述, 徐弘杨¹, 王光明^{2△}审校

(1. 大理大学临床医学院, 云南大理 671000; 2. 大理大学第一附属医院基因检测中心, 云南大理 671000)

关键词: 缺血性脑卒中; 标志物; 诊断效能

中图分类号: R543

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)06-0853-04

脑卒中是一种急性脑血管疾病, 发病急骤, 症状多样, 在全球范围内具有发病、致残、死亡及复发率高等特点, 全球每年约有 1 500 万脑卒中的患者, 其中 20% 的患者可能因脑卒中死亡, 50% 的患者将失去自理能力^[1-2]。我国每年大约有脑卒中患者 120 万至 150 万, 5 年内的复发率高达 41%。在欧美国家中, 脑卒中的发病率和病死率位列第 3 位, 仅次于缺血性心脏病和癌症。脑卒中不仅严重影响了人们的生活质量, 也加剧了社会的经济负担, 医学界将其与冠心病、癌症并列为威胁人类健康的 3 大疾病之一。因此, 准确、及时地诊断缺血性脑卒中对于建立适当的治疗方案是至关重要的。而用单一或多种血液生物标志物来加快对脑卒中的诊断、分型和预测, 以期在最佳时间内对脑卒中患者进行治疗具有较为重要的意义。故本文就脑卒中血液学标志物的研究概况综述如下。

1 缺血性脑卒中的危险因素

1.1 生理和生活因素 脑卒中是一种多因素导致的神经系统疾病, 涉及的病理生理反应众多, 其影响因素也较多, 包括年龄、性别、种族、民族、吸烟、过量酒精的摄入等影响心血管活动的因素。脑卒中可影响任何年龄阶段的人, 且脑卒中的发病率和患病率会随着年龄的增长而急剧增加^[3]。但有文献提出, 脑卒中的复发与年龄或脑卒中的病理类型无关^[4]。众所周知, 吸烟会加速纤维蛋白的激活从而改变血栓的构型, 这很可能会引起血管性脑卒中; 目前酒精对脑卒中的影响机制尚不明确, 但可以肯定的是, 过量的酒精摄入与血管疾病相关, 会使血压升高, 因而可能增

加脑卒中的风险。研究显示, 膳食纤维的摄入量与脑卒中的发生呈负相关^[5-6]。有研究显示, 年龄较大的患者, 死亡的风险更高^[7], 这主要是因为年龄越大的患者其脏器衰老更严重, 对环境和疾病的应激能力也较低, 此外, 感染的发生随环境的变化而变化, 感染者血液成分也会发生改变。因此, 脑卒中的发生可能与气象的变化有一定的相关性。

1.2 疾病因素 许多心血管疾病及其危险因素, 如高血压、房颤、高脂血症等都可能是脑卒中的始作俑者。《中国高血压防治指南》中明确指出, 血压和脑卒中的发生呈对数线性关系, 基础收缩压每增高 10 mm Hg, 脑卒中发生的风险增高 46%, 舒张压每增高 5 mm Hg, 脑卒中发生的风险也会增高 46%, 可见高血压与脑卒中的发生息息相关。而糖尿病会引起体内糖、脂肪和蛋白质的代谢异常, 造成脂质代谢紊乱, 加速动脉硬化, 与小血管疾病的发生关系密切, 另外, 糖尿病患者的血液常常呈现高黏度状态, 若同时伴有高血压, 这些因素将会促进血栓的形成, 导致缺血性脑卒中的发生。脑卒中患者脑源性心律失常发病率较高, 研究发现, 房颤是脑卒中患者常发的心率失常类型之一^[6]。毫无疑问, 高脂血症与高密度脂蛋白水平密切相关, 它是血管性疾病的主要危险因素之一, 因此与脑卒中这一脑部血液循环疾病可能有相关性。

2 缺血性脑卒中的临床诊断

目前, 脑卒中的诊断依赖于典型的临床症状、及时的体检筛查和计算机断层扫描(CT)或脑脊液(CSF)

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360206); 云南省中青年学术技术带头人后备人才基金项目(2014HB025)。

△ 通信作者, E-mail: gmwang1991@hotmail.com。