

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.01.002

郑州地区表观健康人群 sdLDL-C 生物参考区间的建立与验证^{*}刘凤珍, 郭凤霞, 毋小玉, 魏晓霞, 崔发财[△]

河南省人民医院检验科, 河南郑州 450003

摘要:目的 采用过氧化物酶法检测并建立郑州地区表观健康人群血清小而密低密度脂蛋白胆固醇 (sdLDL-C) 活性值参考区间, 并进行验证。方法 选取 2019 年 6 月至 2022 年 6 月在该院特需中心体检健康的 785 例成年人作为研究对象, 并按照性别和年龄 (18~<30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁、50~<60 岁和 ≥60 岁) 进行分组。采用过氧化物酶法检测血清 sdLDL-C 活性值, 采用 Kolmogorov-Smirnov (K-S) 法对各组数据进行正态性检验, 采用双侧 95% CI 进行 sdLDL-C 活性值参考区间上下限的设定。另收集 100 例体检健康者血清样本进行参考区间验证, 当比率值 (R) ≥ 90%, 判断验证通过。结果 郑州地区表观健康人群 sdLDL-C 活性值呈正态分布, 男性为 (0.700 ± 0.151) mmol/L, 女性为 (0.670 ± 0.137) mmol/L, 男女比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。女性各年龄组间血清 sdLDL-C 活性值比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 男性各年龄组间血清 sdLDL-C 活性值比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 进一步分析显示 18~<30 岁组、30~<40 岁组和 40~<50 岁组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 50~<60 岁组与 ≥60 岁组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 因此将男性合并为 18~<50 岁组和 ≥50 岁组。郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值参考区间为女性 (18~80 岁) 0.400~0.938 mmol/L、男性 (18~<50 岁) 0.440~1.004 mmol/L、男性 (≥50 岁) 0.368~0.976 mmol/L。100 例体检健康者的比率值为 0.98, 新建立的参考区间验证通过。结论 该研究初步建立和验证了郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值参考区间, 为心血管疾病的发病风险评估以及诊断治疗提供参考依据。

关键词: 小而密低密度脂蛋白胆固醇; 参考区间; 表观健康人群; 验证; 郑州

中图分类号: R-331

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)01-0008-04

Establishment and verification of sdLDL-C activity value biological reference interval among apparently healthy people in Zhengzhou area^{*}LIU Fengzhen, GUO Fengxia, WU Xiaoyu, WEI Xiaoxia, CUI Facai[△]Department of Clinical Laboratory, Henan Provincial People's Hospital,
Zhengzhou, Henan 450003, China

Abstract: Objective To detect serum small dense low density lipoprotein cholesterol (sdLDL-C) by peroxidase method among the apparently healthy people in Zhengzhou area to establish its activity value reference interval, and to conduct the verification. **Methods** A total of 785 healthy adults by physical examination in the Special Needs Center of this hospital from June 2019 to June 2020 were selected as the study subjects and grouped according to sex and age (18—<30 years old, 30—<40 years old, 40—<50 years old, 50—<60 years old and ≥60 years old). The activity value of serum sdLDL-C was detected by the peroxidase method. The Kolmogorov-Smirnov (K-S) test was used to conduct the normality test of the data in each group, and the upper and lower limits of sdLDL-C activity value reference intervals were set with bilateral 95% confidence intervals (CI). The other 100 serum samples from healthy physical examination subjects were collected to conduct the reference interval verification. When the ratio value (R) ≥ 90%, the verification was judged to be passed. **Results** The serum sdLDL-C activity values among the apparently healthy people in Zhengzhou area showed the normal distribution, which was (0.700 ± 0.151) mmol/L for males and (0.670 ± 0.137) mmol/L for females, and the difference between the males and females was statistically significant ($P < 0.01$). There was no statistical difference of sdLDL-C activity values in females among the varied age groups ($P > 0.05$), while which in males had statistical differences among the varied age groups ($P < 0.05$). Further analysis showed that there was no statistically significant difference among the age groups of 18—<30 years old, 30—<40 years old and 40—<50 years old ($P > 0.05$), and between the age groups of 50—<60 years old and ≥60 years old ($P > 0.05$), therefore, the males were combined into the 18—<50 years old group and ≥

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目 (82002199)。作者简介: 刘凤珍, 女, 主管技师, 主要从事临床生化检验及肿瘤早期诊断相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: cuifacai1@163.com。

50 years old group. The reference interval of serum sdLDL-C activity value in apparently healthy people in Zhengzhou area were 0.400—0.938 mmol/L for females (18—80 years old), 0.440—1.004 mmol/L for males (18—<50 years old), 0.368—0.976 mmol/L for males ($\geq$ 50 years old). The R value of 100 healthy adults in physical examination was 0.98 and the newly established reference interval of serum sdLDL-C passed the verification. **Conclusion** The reference intervals of serum sdLDL-C activity values among the apparently healthy adults in Zhengzhou area are preliminarily established and verified, which provides the reference basis for the risk assessment, diagnosis and treatment of cardiovascular diseases onset.

Key words: small dense low density lipoprotein cholesterol; reference interval; apparently healthy adults; validation; Zhengzhou

冠心病(CHD)是世界范围内引起人类死亡的主要原因,而动脉粥样硬化是导致 CHD 发生的主要危险因素^[1]。小而密低密度脂蛋白胆固醇(sdLDL-C)属于低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)亚型,它与低密度脂蛋白(LDL)受体亲和力低且不易被降解代谢,在循环系统中停留时间长且易被氧化,因此更易渗入动脉血管壁堆积并介导泡沫细胞的形成^[2],参与动脉粥样硬化过程。多项研究结果表明,体内高 sdLDL-C 水平与 CHD 的发病风险密切相关,且 sdLDL-C 检测的敏感性高于传统的 LDL-C 检测^[3-4]。sdLDL-C 检测方法众多,不同试剂厂家提供的参考区间存在差异,参考区间的不适用将会对患者的诊断和治疗造成影响。截至目前,国家卫生健康委员会已陆续更新、发布了 10 个部分的《临床常用生化检验项目参考区间》行业标准,但 sdLDL-C 参考区间尚未包含在内。为此,本研究拟采用过氧化物酶法检测郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值,并初步建立和验证适合本地区的参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2019 年 6 月至 2022 年 6 月在本院特需中心体检健康的 785 例成年人为研究对象 1,用于建立血清 sdLDL-C 活性值参考区间,其中男性 18~<30 岁 70 例,30~<40 岁 74 例,40~<50 岁 64 例,50~<60 岁 84 例, $\geq$ 60 岁 77 例;女性 18~<30 岁 87 例,30~<40 岁 94 例,40~<50 岁 97 例,50~<60 岁 78 例, $\geq$ 60 岁 60 例。将其按照性别和年龄(18~<30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁、50~<60 岁和 $\geq$ 60 岁)进行分组。另选取 2022 年 8 月在本院特需中心体检健康的 100 例成年人为研究对象 2,用于验证新建立的血清 sdLDL-C 活性值参考区间。纳入标准:健康人群分布覆盖郑州市六区六县且居住 1 年以上,血压正常,体质指数(BMI) $18.5 \sim <23.9 \text{ kg/cm}^2$,血常规、尿常规、血脂和血糖均正常,胸部 X 线片或胸部 CT、心电图及 B 超检查均正常。排除标准:有吸烟史、饮酒史、糖尿病史、家族遗传病史和慢性病史,既往或目前患心脑血管疾病、肾脏疾病、内分泌系统疾病、消化系统疾病、代谢和营养性疾病、风湿性疾病。本研究经本院医学伦理委员会审批通过[审批号:(2020)伦审第 76 号]。

1.2 仪器与试剂 血清 sdLDL-C 活性值检测试剂盒及配套校准品和质控品均购自宁波美康生物科技股份有限公司,检测仪器为 ABBOTT ARCHITECT c16000 全自动生化分析仪。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及检测 采集所有研究对象空腹 8 h 外周静脉血 3 mL 于含分离胶无抗凝剂的真空采血管中,2 h 内离心($2\,980 \times g$, 5 min)并分离血清,保存于一 80 ℃超低温冰箱。确保检测系统处于在控状态,采用过氧化物酶法检测健康体检者血清 sdLDL-C 活性值。

1.3.2 参考区间的建立和验证 根据美国临床实验室标准化协会(NCCLS)C28-A2 文件《医学实验室参考区间的定义、建立和确认》^[5]进行参考区间的建立,收集研究对象 1 血清 sdLDL-C 活性值数据,采用狄克逊(Dixon)检验法剔除离群值,对有效数据进行正态性检验并计算 95%CI。根据 WS/T 402-2012 文件《临床实验室检验项目参考区间的制定》^[6]进行参考区间验证,检测研究对象 2 血清 sdLDL-C 活性值,以新建参考区间内样本数与总样本数比值为比率值(R), $R \geq 0.90$ 判定参考区间验证合格。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov(K-S)法,符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。若资料符合正态分布,采用正态分布法建立 sdLDL-C 活性值的参考区间,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 作为参考区间的上下限。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正态性检验 K-S 法检验结果显示,郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值服从正态分布($P > 0.05$),进一步按照性别和年龄进行分组后,各组血清 sdLDL-C 活性值也均服从正态分布($P > 0.05$)。

2.2 血清 sdLDL-C 活性值的性别及年龄组间比较 男性表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值显著高于女性($P < 0.01$),提示需按照性别设置参考区间。单因素方差分析结果显示,女性各年龄组间血清 sdLDL-C 活性值比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。男性各年龄组间血清 sdLDL-C 活性值比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。男性 18~<50 岁各

年龄组间 sdLDL-C 活性值比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$),但显著高于 ≥ 50 岁各年龄组 sdLDL-C 活性值($P<0.05$),提示男性需按照 18~<50 岁和 ≥ 50 岁设置参考区间。见表 1。

表 1 不同年龄的表观健康成年人血清 sdLDL-C 活性值比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)			
性别	年龄(岁)	n	sdLDL-C
女	18~80	416	0.670±0.137
	18~<30	87	0.641±0.134
	30~<40	94	0.681±0.135
	40~<50	97	0.674±0.130
	50~<60	78	0.686±0.138
	≥ 60	60	0.663±0.155
	F		1.445
P			0.218
男	18~89	369	0.700±0.151 [△]
	18~<30	70	0.702±0.177* [#]
	30~<40	74	0.732±0.119* [#]
	40~<50	64	0.743±0.126* [#]
	50~<60	84	0.682±0.158
	≥ 60	77	0.661±0.152
	F		3.894
P			0.004

注:与 18~80 岁女性比较,[△] $P<0.01$;与 50~<60 岁男性比较,* $P<0.05$;与 ≥ 60 岁男性比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 血清 sdLDL-C 活性值参考区间的建立 郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值服从正态分布,选取正态分布图双侧 95%CI($\bar{x}\pm 1.96s$)作为参考区间的上限和下限。参考区间为女性(18~80 岁)0.400~0.938 mmol/L,男性(18~<50 岁)0.440~1.004 mmol/L,男性(≥ 50 岁)0.368~0.976 mmol/L。

2.4 血清 sdLDL-C 活性值参考区间的验证 100 例健康人群中,有 98 例的血清 sdLDL-C 活性值在新建立参考区间内,有 2 例超出参考区间, $R=0.98>0.90$,参考区间验证合格。

3 讨 论

LDL-C 是临床用于预防 CHD 高风险人群发病的首选干预指标^[7],然而近年研究报道,部分 CHD 患者发病前 LDL-C 水平未见异常,另有部分 CHD 高风险人群通过饮食或药物治疗降低体内 LDL-C 水平后,CHD 事件发生风险仍未降低^[8-9]。因此,单纯的 LDL-C 检测并不能完全反映 CHD 患者真实的血脂水平。sdLDL-C 属于 LDL-C 亚型,多项研究显示 sdLDL-C 水平与 CHD 发病风险密切相关^[10-12],其作为预测和评估 CHD 发病风险的指标比 LDL-C 更敏感,已被美国国家胆固醇教育计划成人治疗组列入新发现的主要心血管疾病危险因素之一。目前,越来越多的实验室已经开展了 sdLDL-C 检测,过氧化物酶

法具有操作简便、检测时间短、易于大批量样本检测等优点,已成为常用的检测方法,然而基于该方法的各试剂厂家提供的 sdLDL-C 参考区间存在差异,且厂家建立参考区间时纳入的研究对象受地域限制,不具有代表性。为了更好地发挥 sdLDL-C 的临床应用价值,建立适合本地区的 sdLDL-C 参考区间尤为重要。

本研究结果显示,血清 sdLDL-C 活性值在郑州地区表观健康人群中呈正态分布,男性整体高于女性,女性不同年龄段间血清 sdLDL-C 活性值差异无统计学意义($P>0.05$),男性 18~<50 岁的 3 个年龄组间 sdLDL-C 活性值差异无统计学意义($P>0.05$),但显著高于 ≥ 50 岁各年龄组 sdLDL-C 活性值,提示男性需按照 18~<50 岁和 ≥ 50 岁分段设置参考区间。根据数据分析结果,本研究初步建立了郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值参考区间,并参考 WS/T 402-2012 文件进行了参考区间的验证。我国目前已建立 sdLDL-C 活性值参考区间的地区有成都^[13]、兰州^[14]和呼和浩特^[15],其研究结果均表明 sdLDL-C 活性值在人群中的分布具有性别差异,男性整体均值高于女性,这与本研究结果一致。然而 sdLDL-C 活性值在表观健康人群中的分布状态以及在各年龄段间的差异性表现与上述地区存在差异,这可能与地域、气候环境及生活习惯等因素有关,也可能与纳入研究的样本量有关,后续笔者将进一步扩大样本量进行验证,同时本研究结果也有待得到本地区其他医疗机构的验证。

综上所述,本研究初步建立和验证了郑州地区表观健康人群血清 sdLDL-C 活性值参考区间,有助于筛查心脑血管疾病高风险人群,便于临床采取有效的干预手段来降低心脑血管疾病的发生率和病死率。

参考文献

[1] LU X, LIU Z, CUI Q, et al. A polygenic risk score improves risk stratification of coronary artery disease: a large-scale prospective Chinese cohort study [J]. Eur Heart J, 2022, 43(18):1702-1711.

[2] 台润东,黄淑田,马娇婷,等.小而密低密度脂蛋白与冠状动脉粥样硬化相关性研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2021,19(11):1841-1843.

[3] ISHII J, KASHIWABARA K, OZAKI Y, et al. Small dense low-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular risk in statin-treated patients with coronary artery disease[J]. J Atheroscler Thromb, 2022, 29(10):1458-1474.

[4] 庞晓彬.血清小而密低密度脂蛋白胆固醇表达水平与冠心病的关系分析[J/CD].中西医结合心脑血管病电子杂志, 2020, 8(7):66-67.

[5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guideline: C28-A2 [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.

(下转第 15 页)

[4] FLORIO W, MORICI P, GHELARDI E, et al. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections [J]. Crit Rev Microbiol, 2018, 44(3): 351-370.

[5] SONG Y, GYARMATI P. Optimized detection of bacteria in bloodstream infections [J]. PLoS One, 2019, 14(6): e0219086.

[6] EVANS L, RHODES A, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. Intens Care Med, 2021, 47(11): 1181-1247.

[7] LOONEN A J, DE JAGER C P, TOSSERAMS J, et al. Biomarkers and molecular analysis to improve bloodstream infection diagnostics in an emergency care unit [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87315.

[8] 包相华, 刘文文, 邹茹, 等. 革兰阴性菌血流感染脓毒症患者炎症因子和免疫功能及其诊断价值 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(12): 1795-1799.

[9] 上海市微生物学会临床微生物专业委员会, 上海市医学会检验医学专科分会, 上海市医学会危重病专科分会. 血流感染临床检验路径专家共识 [J]. 中华传染病杂志, 2022, 40(8): 457-475.

[10] HAMADE B, HUANG D T. Procalcitonin: where are we now? [J]. Crit Care Clin, 2020, 36(1): 23-40.

[11] XU H G, TIAN M, PAN S Y. Clinical utility of procalcitonin and its association with pathogenic microorganisms [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2022, 59(2): 93-111.

[12] 陈凤萍, 刘玲, 赵友云. 降钙素原在革兰阴性菌感染败血症中的早期诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(9): 1112-1115.

[13] ZHANG Y, LA M, SUN J, et al. Diagnostic value and prognostic significance of procalcitonin combined with c-reactive protein in patients with bacterial bloodstream infection [J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022: 6989229.

[14] 陈曦, 崔丽丽, 张然, 等. C 反应蛋白检测与应用的研究进展 [J]. 检验医学与临床, 2023, 20(8): 1139-1142.

[15] KUMARASAMY C, SABARIMURUGAN S, MADURAN-TAKAM R M, et al. Prognostic significance of blood inflammatory biomarkers NLR, PLR, and LMR in cancer: a protocol for systematic review and meta-analysis [J]. Medicine, 2019, 98(24): e14834.

[16] JIANG J, LIU R, YU X, et al. The neutrophil-lymphocyte count ratio as a diagnostic marker for bacteraemia: a systematic review and meta-analysis [J]. Am J Emerg Med, 2019, 37(8): 1482-1489.

[17] 刘霞, 陈慧敏, 朱文俊, 等. 血清 PCT、CRP 及中性粒细胞百分比辅助诊断血流感染的临床价值 [J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(16): 2416-2419.

[18] 孙天文, 杨柯. 血清 PCT、CRP 及 NLR 联合检测在细菌性血流感染诊断中应用研究 [J]. 罕少疾病杂志, 2023, 30(1): 101-102.

(收稿日期: 2023-06-20 修回日期: 2023-10-16)

(上接第 10 页)

[6] 中华人民共和国卫生部. 临床实验室检验项目参考区间的制定: WS/T 402-2012[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.

[7] MACH F, BAIGENT C, CATAPANO A L, et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk [J]. Atherosclerosis, 2020, 41(1): 111-188.

[8] ROCHA V Z, SANTOS R D. Baseline LDL-C levels and risk of cardiovascular events: is there any room for questions [J]. Int J Cardiol, 2019, 286: 166-167.

[9] 沙婉婧, 柳雨亭, 瞿惠燕, 等. 小而密低密度脂蛋白在冠心病中西医结合治疗中的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(16): 2768-2770.

[10] HOOGEVEEN R C, GAUBATZ J W, SUN W, et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(5): 1069-1077.

[11] HIGASHIOKA M, SAKATA S, HONDA T, et al. Small dense low-density lipoprotein cholesterol and the risk of coronary heart disease in a Japanese community [J]. J Atheroscler Thromb, 2020, 27(7): 669-682.

[12] QI Y, LIU J, WANG W, et al. High sdLDL cholesterol can be used to reclassify individuals with low cardiovascular risk for early intervention: findings from the Chinese multi-provincial cohort study [J]. J Atheroscler Thromb, 2020, 27(7): 695-710.

[13] 李静, 全晖, 曾志荣, 等. 成都地区表观健康者小而密低密度脂蛋白胆固醇参考区间建立 [J]. 检验医学, 2021, 36(6): 609-614.

[14] 吴燕, 何津春, 朱槿宏, 等. 兰州市健康人群小而密低密度脂蛋白胆固醇生物参考区间的建立 [J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1619-1621.

[15] 王美英, 韩艳秋. 酶法检测呼和浩特地区蒙汉人群血清 sdLDL-C 水平的调查 [J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(2): 195-198.

(收稿日期: 2023-04-11 修回日期: 2023-10-30)