

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ КАЧЕСТВЕННОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО БЕЛКА, СВЯЗЫВАЮЩЕГО ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ, В ГРУППЕ БОЛЬНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ БЕЗ НЕДАВНИХ КОРОНАРНЫХ СОБЫТИЙ

А.В. Зырянова¹, Н.Н. Ярохно², К.Ю. Николаев¹

¹НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск

²ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава

E-mail:azyr@list.ru

THE STUDY OF THE SPECIFICITY OF QUALITATIVE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD OF IDENTIFYING HEART-TYPE FATTY ACID-BINDING PROTEIN APPLIED TO CARDIOVASCULAR PATIENTS WITHOUT RECENT ACUTE CORONARY SYNDROME

A.V. Zyrianova¹, N.N. Yarokhno², K.Y. Nikolaev¹

¹ Institute of Therapy of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk

²Novosibirsk State Medical University

Цель исследования: изучение специфичности качественного иммунохроматографического метода определения сердечного белка, связывающего жирные кислоты (сБСЖК), у больных без острых коронарных событий. Группа состояла из 31 больного (средний возраст – 66,69±2,17 лет) с отсутствием клинико-лабораторных и электрокардиографических признаков острой коронарной недостаточности не менее чем за 15 дней до исследования. Всем больным выполнялся качественный иммунохроматографический экспресс-тест, определяющий диагностический для острого инфаркта миокарда уровень сБСЖК – 15 нг/мл, больным с положительным результатом экспресс-теста выполнялось определение МВ-креатинфосфокиназы в динамике. Специфичность изучаемого метода определения сБСЖК составила 90,6%. Установлено также, что клинико-лабораторные факторы, коморбидная патология и проводимая больным лекарственная терапия не оказывали значимого влияния на результаты данного метода диагностики.

Ключевые слова: сБСЖК; острый инфаркт миокарда; специфичность; экспресс-диагностика.

The research was aimed at studying the peculiarities of qualitative immunochromatographic method of identifying heart-type fatty acid-binding protein (h-FABP) applied to patients without acute coronary syndrome. The group consisted of 31 patients (average age – 66,69±2,17 years old) with wide range of cardiovascular diseases and without clinical signs of acute coronary syndrome within 15 days before the test. All patients underwent immunochromatographic express-test defining the level of h-FABP 15 ng/ml which is diagnostic for acute myocardial infarction. Serial determination of creatin kinase-MB was performed to patients with positive express-test h-FABP. Specificity of the express-test h-FABP was 90,6%. It was proved that clinical laboratory characteristics, comorbid pathology, medical treatment received by the patients do not have significant influence on the results of the given diagnostic method.

Key words: h-FABP, acute myocardial infarction, specificity, express diagnostics.

Сердечный белок, связывающий жирные кислоты (сБСЖК), впервые был предложен в качестве раннего кардиального биомаркера в Glatz J.F. и соавт. (1988), зафиксировавшими его высвобождение из некротизированного миокарда в плазму. Это открытие спровоцировало многочисленные исследования данного цитоплазматического низкомолекулярного белка (15 кДа) и разработку на его основе высокоэффективных тест-систем для ранней диагностики острого инфаркта миокарда (ОИМ) [2, 7, 9].

Содержание сБСЖК в кардиомиоцитах значительно превышает его содержание в других тканях, что позволяет говорить о высокой кардиоспецифичности биомар-

кера. Вместе с тем известно, что присутствие сБСЖК в скелетных мышцах и головном мозге, а также повышение его фонового уровня в крови при выраженной хронической почечной недостаточности (ХПН) способно оказывать влияние на специфичность методики [9, 11]. Появление “ложных положительных” результатов сБСЖК может быть также обусловлено иммунохимическими особенностями строения различных диагностических тест-систем.

Иммунохроматографический анализ уровня сБСЖК является перспективным методом прикроватной верификации диагноза ОИМ. Ранее выполненные исследования показали, что в первые 1–12 ч от начала клинических проявлений острого коронарного синдрома (ОКС) данный

метод имеет высокие значения чувствительности и специфичности в отношении ОИМ [5, 6]. Вместе с тем для всесторонней оценки надежности и информативности тест-системы необходимым также является целенаправленное изучение ее специфичности в группе сравнения. Однако подобные исследования иммунохроматографического метода определения сБСЖК в доступной нам литературе не встречались.

Цель исследования: изучить специфичность качественного иммунохроматографического метода определения сБСЖК и проанализировать влияние коморбидной патологии, клинико-функциональных факторов и лекарственной терапии на результаты данного метода диагностики в группе больных без недавних острых коронарных событий (группе сравнения).

Материал и методы

Исследование специфичности сБСЖК, определенно-го иммунохроматографическим методом по типу “случай–контроль”, проводилось с 2008 по 2009 гг. на базе Центральной клинической больницы СО РАН г. Новосибирска в соответствии с решениями локального этического комитета и этического комитета НИИ терапии СО РАМН. В группу исследования вошли последовательные больные, получавшие плановое лечение по поводу различных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и подписавшие информированное согласие. Критериями включения являлись:

- 1) отсутствие типичных ангинозных болей длительностью более 30 мин, не купирующихся приемом нитроглицерина или его эквивалентов, не менее чем за 15 дней до исследования;
- 2) отсутствие “новых” лабораторных и электрокардиографических признаков острой коронарной недостаточности не менее чем за 15 дней до исследования.

Критериями исключения являлись: острая стадия ОИМ, ХПН III–IV степени, острый инсульт, тахисистолическая форма фибрилляции предсердий, травмы с разрывом мышц; а также ранний период после аортокоронарного шунтирования (АКШ), чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (ЧТКА) и электроимпульсной терапии; уровень гемоглобина крови менее 70 г/л и заведомо неблагоприятный прогноз.

Всем больным проводился качественный иммунохроматографический экспресс-тест “КардиоБСЖК” производства ООО НПО “БиоТест”, Россия (тест сБСЖК), определяющего уровень сБСЖК с чувствительностью 15 нг/мл. В овальное окно теста вносили 100–150 мкл цельной гепаринизированной венозной крови, затем в прямоугольном окне оценивали результат визуально качественно в течение 5–25 мин. “Положительный” результат (две окрашенные линии) свидетельствовал об уровне сБСЖК выше диагностического, “отрицательный” (одна окрашенная линия) – об уровне сБСЖК ниже диагностического для ОИМ [1].

Больным с “положительным” результатом теста сБСЖК дополнительно выполнялся динамический контроль МВ-КФК каждые восемь часов в течение суток по методу иммуоингибирования с измерением активнос-

ти по NAC-активации на автоанализаторе “Cobas Integra 400 plus” с использованием реагентов “Rosh Diagnostics” (Германия, Швейцария).

Группу исследования составили 31 больной (средний возраст – $66,69 \pm 2,17$ лет): 18 мужчин (средний возраст – $61,83 \pm 2,80$ лет) и 13 женщин (средний возраст – $73,08 \pm 2,48$ лет). Частота ССЗ и сопутствующей патологии в группе представлена в таблице 1. Наиболее часто имели место: артериальная гипертензия – 87,1%; ишемическая болезнь сердца (ИБС) – 71%; хроническая сердечная недостаточность (ХСН) II ФК (NYHA) – 45,2%; хроническая ишемия головного мозга – 41,2% и постинфарктный кардиосклероз (ПИКС) – 35,5% больных. Более трети больных (32,3%) имели в анамнезе вмешательства на коронарных артериях: ЧТКА и АКШ.

Клинико-лабораторная характеристика исследованных больных в виде средних арифметических значений со стандартной ошибкой среднего ($M \pm m$) представлена в таблице 2. Для значений уровня мочевины были вычислены медиана (6,80 ммоль/л) и квартильные интервалы (5,70 и 8,90 ммоль/л). У больных наблюдалось повышение средних значений холестерина, уровня мочевины в верхнем quartile и избыточная масса тела. Уровень креатинина находился на пограничных с нормой значениях.

Лекарственная терапия в данной группе больных была представлена широким спектром препаратов (43 фармакопейных наименования). Наиболее часто больные принимали аспирин – 80,65%; в-блокаторы – 67,7%; ингибиторы АПФ – 64,2%; мочегонные – 61,3%; нитраты – 32,3%; антагонисты к рецепторам ангиотензина II, антагонисты кальция и сахароснижающие препараты – по 25,8%; дигоксин – 16,1%; непрямые антикоагулянты и мексидол – по 12,9% больных. Остальные лекарственные препараты назначались реже, чем в 10% случаев.

Обработка результатов исследования проводилась на персональном компьютере в программе SPSS 11.05. Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова–Смирнова. При отсутствии нормального распределения вычисляли медианы и квартильные интервалы (25% и 75%). Значимость различий при сравнении выборок с нормальным распределением оценивалась по t-критерию Стьюдента. В случае номинальных показателей применялся критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса. Коэффициент сопряженности Пирсона использовался для анализа ассоциаций номинальных показателей. Для определения значимости различных ассоциаций проводился многофакторный регрессионный анализ. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы был равен 0,05.

Результаты

Поскольку исследуемые больные на протяжении значительного интервала времени до постановки теста сБСЖК (уровень сБСЖК нормализуется к концу 1–2-х суток ОИМ) не имели клинико-лабораторных и электрокардиографических признаков острой коронарной недостаточности, получали плановое обследование и лечение, результаты теста должны были быть “отрицательные”. Тем не менее, у трех больных был зарегистрирован

Таблица 1

Частота сердечно-сосудистых заболеваний и сопутствующей патологии

Заболевания и состояния	n	%
Сердечно-сосудистые заболевания и состояния		
Артериальная гипертония II и III стадии (ВОЗ)	27	87,1
Ишемическая болезнь сердца	22	71,0
Постинфарктный кардиосклероз	11	35,5
Нестабильная стенокардия	8	25,8
Стабильная стенокардия	7	22,6
ЧТКА в анамнезе	6	19,4
АКШ в анамнезе	4	12,9
Подострая стадия острого инфаркта миокарда	3	9,7
Постоянная нормоформа фибрилляции предсердий	3	9,7
Пароксизмальная нормоформа фибрилляции предсердий	3	9,7
ХСН I ФК	8	25,8
ХСН II ФК	14	45,2
ХСН III ФК	7	22,6
ХСН IV ФК	1	3,2
Сопутствующие заболевания		
Хронические ишемические заболевания головного мозга	13	41,9
Сахарный диабет второго типа	7	22,6
Мочекаменная болезнь	5	16,1
Хронический холецистит	4	12,9
Желче-каменная болезнь	3	9,7
Язвенная болезнь 12-перстной кишки	3	9,7
Хронический пиелонефрит	3	9,7
Хронический панкреатит	2	6,5
Остеохондроз	2	6,5
Доброкачественная гиперплазия предстательной железы	1	3,2
Узловой зоб	1	3,2
Поллиартрит	1	3,2
Хронический бронхит	1	3,2

Таблица 2

Клинико-функциональная характеристика больных

Показатели	M±m
Возраст (лет)	66,69±2,17
Рост (см)	167,90±1,39
Масса тела (кг)	84,23±3,77
Индекс Кетле II (кг/м ²)	29,80±1,20
Гемоглобин (г/л)	130,23±1,71
Гематокрит (%)	38,14±1,23
Эритроциты (x10 ¹² /л)	4,84±0,07
Тромбоциты (x10 ⁹ /л)	261,00±19,84
Лейкоциты (x10 ⁹ /л)	7,00±0,44
Общий билирубин (ммоль/л)	17,06±0,83
Общий холестерин (ммоль/л)	5,38±0,16
Креатинин (мкмоль/л)	122,25±11,05
Фракция выброса левого желудочка (ЭхоКГ, %)	59,90±2,69

“положительный” результат при нормальных значениях серии МВ-КФК. Данные результаты были расценены как “ложные положительные”. Характеризуя пациентов с “ложными положительными” результатами, следует отметить, что первый больной получал лечение по поводу декомпенсации ХСН на фоне ИБС и ПИКС, а также имел АКШ и ЧТКА в анамнезе; у второго была диагностирована ИБС, ПИКС, нестабильная стенокардия; третий больной был госпитализирован по поводу ухудшения течения артериальной гипертонии без сопутствующей ИБС. Соответственно, специфичность теста составила 90,6%.

Отметим, что у всех больных с подострой стадией ОИМ в нашем исследовании результаты теста были “отрицательными”.

Сопоставление частоты сердечно-сосудистых нозологий и сопутствующих заболеваний при “ложном положительном” и “отрицательном” показателях теста СБСЖК позволило установить отсутствие статистически значимых различий ($p>0,05$). Изучение возможности влияния клинико-лабораторных характеристик на данный метод диагностики также не выявило статистически значимых различий при “ложном положительном” и “отрицательном” результатах теста ($p>0,05$). Следовательно, данные факторы не оказывали значимого влияния на результат экспресс-теста.

Выполнение корреляционного анализа не выявило достоверных ассоциаций результата теста СБСЖК с большинством других лекарственных препаратов, которые получали исследуемые больные ($p>0,05$), однако позволило установить высокодостоверные ассоциации с приемом клопидогреля ($\chi^2=9,64$; $p=0,002$), торасемида ($\chi^2=3,98$; $p=0,046$) и гликлазида ($\chi^2=3,98$; $p=0,046$) и предполагать возможное влияние данных препаратов на результаты теста. Для уточнения значимости выявленных достоверных ассоциаций был выполнен многофакторный регрессионный анализ. В качестве зависимой использовалась дихотомическая переменная “результат теста СБСЖК”, в качестве ковариаций введены переменные “прием клопидогреля”, “прием гликлазида” и “прием торасемида”. Созданная регрессионная модель имела высокое качество ($p=0,003$) и корректно сгруппировала 93,5% наблюдений. Установлено, что результат теста СБСЖК не был связан с приемом лекарственных препаратов ($p=0,999$).

Обсуждение

Показательно, что специфичность теста СБСЖК в настоящем исследовании сопоставима с установленным нами ранее показателем специфичности данного метода в группе больных с ОКС – 87,5% [5]. Полученные значения специфичности также весьма близки к результатам исследований диагностической значимости СБСЖК, выполненным с использованием иммуноферментного анализа [3].

Критерии отбора больных в настоящем исследовании исключали влияние на результат теста СБСЖК известных ограничений методики. Нами не было выявлено также каких-либо других факторов, способных снизить специфичность, поэтому причина возникновения “ложных положительных” результатов не была окончательно ясной. Следует отметить, что во всех случаях “ложных положительных” результатов тестовая полоса имела бледную розовую окраску, что свидетельствовало о небольшом повышении уровня СБСЖК относительно чувствительности изучаемой тест-системы. В то же время уровень СБСЖК был все-таки высоким, так как чувствительность теста адаптирована к ОИМ и превышает верхнюю

границу нормы более чем в два раза [1].

В этой связи обращают на себя внимание результаты исследования Pelsner M.M. (2004), свидетельствующие о повышении уровня сБСЖК выше 6 нг/мл у больных с ХСН ФК III-IV и нестабильной стенокардией в 72,4% случаев, в то время как повышение уровня тропонина Т выше 0,02 нг/мл было зарегистрировано только у 48,3% этих же больных [8]. Эти данные сопоставимы с наблюдениями Suzuki M. (2005) [10]. Авторы заключают, что сБСЖК является более чувствительным маркером не обширного некроза кардиомиоцитов, чем сердечные тропонины, благодаря относительно низкой концентрации сБСЖК в плазме здоровых доноров и высокому его содержанию в миокарде. Кроме того, многие авторы подтвердили независимую связь повышения уровня сБСЖК выше 6–10 нг/мл с рецидивом ОКС и неблагоприятным прогнозом в ближайшие 6–12 мес. [4, 7].

Таким образом, в нашем случае больные, имеющие “ложные положительные” результаты теста сБСЖК, возможно, могут рассматриваться как больные с малыми не верифицированными повреждениями миокарда, а также высоким риском возникновения ОКС и летального исхода. Подтверждение данной гипотезы может стать поводом для дальнейших научных исследований.

Выводы

1. Специфичность качественного иммунохроматографического метода определения сБСЖК в группе больных без недавних острых коронарных событий (группе сравнения) составляет 90,6%.
2. Коморбидная патология, изученные клинико-функциональные факторы, а также проводимая данной категории больных лекарственная терапия не оказывают значимого влияния на результаты качественного иммунохроматографического метода определения сБСЖК ($p > 0,05$) при соблюдении условий постановки теста.

Литература

1. Инструкция по применению набора реагентов “Карди-обСЖК”. – Новосибирск, 2008. – С. 1–2.
2. Рябов В.В., Суслова Т.Е., Марков В.А. Определение белка, связывающего жирные кислоты, в диагностике острого инфаркта миокарда // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – № 3. – С. 26–29.
3. Трифонов И.Р. Характеристика сердечного белка, связывающего жирные кислоты, как маркера некроза миокарда в часто встречающихся клинических ситуациях : автореф. дис. докт. мед. наук. – М., 2009. – 47 с.
4. Эрлих А.Д., Катруха А.Г., Трифонов И.Р. и др. Острый коронарный синдром без подъема сегмента ST на ЭКГ. Прогностическое значение сердечного белка, связывающего жирные кислоты. Результаты 12-месячного наблюдения // Кардиология. – 2005. – № 5. – С. 13–21.
5. Ярошно Н.Н., Зырянова А.В., Николаев К.Ю. Определение сердечного белка, связывающего жирные кислоты, при остром инфаркте миокарда с помощью качественного теста // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2009. – № 4. – С. 24–27.
6. Ecollan P., Collet J.-P., Boon G. et al. Pre-hospital detection of acute myocardial infarction with ultra-rapid human fatty acid-binding protein (H-FABP) immunoassay // Int. J. Cardiol. – 2007. – № 119 (3). – P. 349–54.
7. Kilcullen N., Viswanathan K., Das R. et al. EMMACE-2 Investigators. Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term mortality after acute coronary syndrome and identifies high-risk patients across the range of troponin values // J. Amer. Coll. Cardiol. – 2007. – Vol. 50 (21). – P. 2061–2067.
8. Pelsers M.M. Fatty acid-binding protein as plasma marker for tissue injury / Maastricht University. – Maastricht, The Netherlands, 2004. – P. 75–83.
9. Pelsers M.M., Hanhoff T., Van der Voort D., et al. Brain- and heart-type fatty acid-binding proteins in the brain: tissue distribution and clinical utility // Clin. Chem. – 2004. – Vol. 50. – P. 1568–1575.
10. Suzuki M., Hori S., Noma S. et al. Prognostic value of a qualitative test for heart-type Fatty Acid-binding protein in patients with acute coronary syndrome // Int. Heart J. – 2005. – Vol. 46. – P. 601–606.
11. Watanabe K., Wakabayashi H., Veerkamp J.H. et al. Immunohistochemical distribution of heart-type fatty acid binding protein immunoreactivity in normal human tissues and in acute myocardial infarct // J. Pathol. – 1993. – Vol. 170. – P. 59–65.

Поступила 25.06.2010