

Винахід відноситься до медицини, а саме, до кардіології, і може бути використаний в амбулаторних і стаціонарних умовах лікувально-профілактичних і науково-дослідних закладів для діагностики спадкової схильності до ІХС у осіб, які не знають, чи не можуть уточнити свій спадковий анамнез.

На теперішній час відомо, що післяхарчова ліпемія (ПХЛ) є незалежним фактором ризику атеросклерозу, оскільки процеси, що відбуваються у організмі після їжі чинять уражуючий вплив на артерії. В останні роки встановлено, що генетичні фактори (обтяжена за атеросклерозом спадковість, поліморфізм аполіпропротеїнових генів) багато в чому визначають вираженість ПХЛ, а сама ПХЛ може бути варіантом експресії обтяженої на ІХС спадковості. Але в клінічній практиці зустрічаються випадки, коли пацієнт з ІХС не знає, чи не може уточнити свій спадковий анамнез.

Оскільки ПХЛ виникає у людини декілька разів на день, наявність нормоліпідемії натще найбільш вірогідна при відсутності генетичних дефектів обміну ліпопротеїдів (ЛП). Наявність дисліпопротеїдемії натще та її посилення після їжі і збереження тривалий час в наступному, можуть навести на думку про спадкові дефекти метаболізму ЛП.

Отже, виникає необхідність в розробці способів діагностики спадкової схильності до ІХС особливо у осіб, які не знають, чи не можуть уточнити свій спадковий анамнез з метою подальшого прогнозування стану ліпідного обміну та ефективності гіполіпідемічних втручань.

Відомий спосіб діагностики обтяженої за ранньою ІХС спадковості (стаття Tietz L., Gerdes C., Murphy M.J. et al. Postprandial response to fat tolerance test in young adults with parental history of premature coronary heart disease - the EARS II study // Eur. J. Clin. Invest. - 2000. - V.30, N7. - P.578-585), в якому збирають анамнез за факторами ризику ІХС з уточненням клініко-генеалогічних даних, проводять біохімічне дослідження крові двічі: натще та через 4 години після стандартного жирового навантаження (СЖН). Через 4 години після СЖН в крові визначають вміст тригліцеридів (ТГ) і при підвищенні рівня ТГ на 50% від вихідного діагностують обтяжену за ранньою ІХС спадковість.

Недоліком є те, що спосіб малоінформативний, бо діагностика обтяженої за ранньою ІХС спадковості обмежується лише визначенням одного показника ліпідного обміну - ТГ.

Відомий також спосіб діагностики генетичних дефектів метаболізму ТГ (стаття Przybycien K., Kornacewicz-Jach Z., Torbus-Lisiecka B. et al. Is abnormal postprandial lipemia a familial risk factor for coronary artery disease in individuals with normal fasting concentrations of triglycerides and cholesterol? // Coron. Artery Dis. - 2000. - Vol.11, N5. - P.377-381) - прототип, згідно якому збирають анамнез за факторами ризику ІХС з уточненням клініко-генеалогічних даних, проводять біохімічне дослідження сироватки крові тричі батькам, тричі дітям - натще, через 4 і 6 годин після СЖН. Через 4 та 6 годин після СЖН визначають рівень ТГ в крові батьків з ІХС і їх дітей (без ІХС). При більш тривалому зберіганні вираженого підвищення рівня ТГ після СЖН (6 годин проти 4 годин в нормі) діагностують генетичні дефекти метаболізму ТГ. Дітей, батьки яких мають ІХС, відносять до групи ризику по обтяженій спадковості при умові зберігання вираженого підвищення рівня ТГ протягом 6 годин після СЖН.

Недоліком є те, що спосіб незручний у використанні за необхідністю вимірювання ТГ двічі (через 4 і 6 годин від часу проведення СЖН) і за об'ємом обстеження (обстежують дітей та їх батьків). Спосіб внаслідок цих причин є дорогокоштовним.

В основу винаходу поставлена задача, яка полягає в розробці такого способу діагностики спадкової схильності до ІХС, у якому вибір більш інформативних діагностичних критеріїв дозволить діагностувати спадкову схильність до ІХС особливо у випадках, коли пацієнт не знає свого генеалогічного анамнезу і не втрачати час на складні, трудомісткі і дорогокоштовні молекулярно-генетичні дослідження.

Задача вирішується у способі шляхом збирання анамнезу за факторами ризику ІХС з уточненням клініко-генеалогічних даних, проведення біохімічного дослідження сироватки крові пацієнта натще, проведення СЖН і визначення показників ліпідного профілю (ТГ) натще і через 4 години після СЖН.

Відрізняючими ознаками способу в порівнянні з прототипом є те, що:

- у осіб, які не знають свого спадкового анамнезу, додатково виконують субмаксимальне фізичне навантаження (СМФН) на велоергометрі через 4 години після СЖН;
- у якості біохімічних показників додатково визначають загальний холестерин (ЗХС) та холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) натще, через 4 години після СЖН, через 5 хвилин після СМФН на велоергометрі, включаючи визначення рівня ТГ;
- проводять велоергометрію у випадках, коли рівень ТГ через 4 години після СЖН підвищується не менш, ніж на 50% від вихідного (натще);
- припускають наявність спадкової схильності до ІХС на підставі підвищення на 10-15% ЗХС, не менш, ніж на 50% - ТГ і зниження ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 5% через 4 години після СЖН;
- діагностують спадкову схильність до ІХС при подальшому (через 5хв. після виконання СМФН на велоергометрі) підвищенні ТГ більш, ніж на 75%, ЗХС більш, ніж на 15% , зниженні ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 7% від вихідного значення.

*У осіб, які не знають свого спадкового анамнезу, виконання СМФН на велоергометрі є доцільним, бо відомо, що комбінація двох зовнішніх факторів - короткотермінового фізичного навантаження і ПХЛ є однією із умов реалізації спадкової схильності до ІХС в повсякденному житті і може провокувати посилення змін атерогенної спрямованості в ліпідотранспортній системі. З останніми пов'язаний той факт, що надмірні фізичні навантаження на виробництві і в побуті асоціюють з більш високою частотою ІХС (Miesenbock G., Patsch J.R. Postprandial hyperlipidemia: the search for atherogenic lipoprotein // Curr. Opin. Lipidol. - 1992. - Vol.3. - P.196-201; Аронов Д.М., Бубнова М.Г., Перова Н.В. и др. Влияние максимальной и субмаксимальной физических нагрузок на алиментарную дислипидемию // Тер. арх. - 1993. - №3. - С.57-62).

* Додаткове визначення ЗХС, ХС ЛПВЩ обумовлено тим, що поряд з ТГ ці показники найбільш детальніше характеризують стан ліпідного обміну натще, через 4 години після СЖН та через 5 хвилин після СМФН на велоергометрі в період ПХЛ (Чернышев В.А. Влияние субмаксимальной физической нагрузки на выраженность постпищевой липемии у больных с ишемической болезнью сердца и метаболическими расстройствами // Медицина сегодня и завтра. - 2000. - №3. - С.35-38).

* Встановлено, що для зменшення ступеня вираженості ПХЛ потрібні фізичні тренування, а одним із можливих механізмів зменшення ПХЛ є підвищення активності ліпопротеїдліпази в працюючих скелетних м'язах (Hardman A.E., Lawrence J.E., Herd S.L. Postprandial lipemia in endurance-trained people during a short interruption to

training // J. Appl. Physiol. - 1998. - Vol. 84. - N.6. - P.1895-1901). Звідси випливає, що у випадках з вираженою післяхарчовою гіпертригліцеридемією через 4 години після СЖН (коли рівень ТГ підвищується не менш, ніж на 50%) доцільно проведення велоергометрії для виконання СМФН з метою контролю за динамікою рівня ТГ. Якщо у осіб з невідомим спадковим анамнезом зниження показника не спостерігається, можна припустити наявність спадкової схильності до ІХС на підставі існуючих взагалі генетичних порушень метаболізму ліпідів.

* Підвищення рівня ЗХС і зниження вмісту ХС в ЛПВЩ на максимумі ПХЛ і подальша аналогічна динаміка показників після СМФН на велоергометрії пов'язані з наявністю у пацієнта спадково зумовлених порушень ліпідного обміну, навіть при невідомому спадковому анамнезі (Syvane M., Talmud P.J., Humphries S.E. et al. Determinants of postprandial lipemia in men with coronary artery disease and low levels of HDL cholesterol // J. Lipid Res. - 1997. - N.7. - P.1463-1472).

* Припустити наявність спадкової схильності до ІХС у осіб з невідомим спадковим анамнезом можливо при підвищенні рівня ЗХС на 10-15%, ТГ - не менш, ніж на 50%, зниженні ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 5% через 4 години після СЖН порівняно з вихідними значеннями натще (Чернышев В.А., Целуйко В.И. Влияние расстройств метаболизма на выраженность постпищевой липемии у больных ишемической болезнью сердца // Укр. кардіол. журн. - 2000. - №5-6. - С.17-20).

* Діагностичними критеріями спадкової схильності до ІХС у випадках з невідомим спадковим анамнезом будуть подальше підвищення ЗХС більш, ніж на 15%, ТГ - більш, ніж на 75%, зниження ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 7% після виконання СМФН на велоергометрії порівняно з вихідними значеннями натще (Чернышев В.А. Влияние субмаксимальной физической нагрузки на выраженность постпищевой липемии у больных с ишемической болезнью сердца и метаболическими расстройствами // Медицина сегодня и завтра. - 2000. - №3. - С.35-38).

Це зумовлено тим, що при наявності спадкових дефектів метаболізму ліпідів СМФН здатне погіршувати ліпідний профіль пацієнтів завдяки існуючому при мутаціях порушенню в системі зворотного транспорту холестерину, що сповільнює надходження післяхарчових ліпідів до печінки і сприяє подальшому підвищенню ЗХС, ТГ і зниженню ХС ЛПВЩ. А при виконанні СМФН механізм зворотного транспорту холестерину спрацьовує з затримкою в умовах енергетичного дисбалансу і дисліпопротеїдемії, що спричиняються фізичним навантаженням (Lopez-Miranda J., Ordovas J.M., Ostos M.A. et al. Dietary fat clearance in normal subjects is modulated by genetic variation at the apolipoprotein B gene locus // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. - 1997. - VCol. 17. - N.9. - P.1765-1773).

Дослідження за запропонованим способом поведені в Інституті терапії АМН України на 104 хворих та 15 здорових осіб, залучених до контрольної групи.

Використання способу в медичній практиці забезпечує у порівнянні з прототипом можливість діагностувати спадкову схильність до ІХС особливо у випадках, коли пацієнт не знає свого генеалогічного анамнезу і не витрачати час на складні і дорогокоштовні молекулярно-генетичні дослідження (див. табл. 1).

Таблиця 1

Перевага способу, що заявляється, над прототипом

Показники, що порівнюють	Способи	
	Прототип	Спосіб, що заявляється
1. Діагностичні критерії	ТГ	ТГ, ЗХС, ХС ЛПВЩ
2. Категорії осіб, які обстежуються	Батьки з ІХС та їх здорові діти	Особи, які не знають свого спадкового анамнезу
3. Спосіб діагностики	Складний (Обстеження 6-разове: тричі у дітей і тричі - у батьків)	Простий (обстеження поводять тричі: натще, через 4 години після СЖН і через 5 хв після велоергометрії, яка виконується в період ПХЛ)
4. Специфічність	85%	більш, ніж 90%
5. Чутливість	70%	більш, ніж 75%

Відтворення способу згідно винаходу - 97%.

Запропонований спосіб здійснюють в такій послідовності:

1. Збирають анамнез пацієнта за факторами ризику ІХС з уточненням клініко-генеалогічних даних.
2. Беруть кров із ліктьової вени натще. Проводять біохімічне дослідження стандартним ферментативним методом на автоаналізаторі і визначають такі показники ліпідного профілю, як ЗХС, ТГ, ХС ЛПВЩ.

3. Проводять СЖН за методом Patsch J.R. et al. (1984). Для цього пацієнту після забору венозної крові натще пролонгують з'їсти протягом 5 хвилин сніданок, що містить емульгований жир у вигляді 20% вершків 500мл та 50,0г білого хліба або здібної булки. Калорійність такого сніданку складає біля 1300ккал, вміст ХС в ньому - 420мг (Patsch J.R., Prasad S., Gotto A. et al. Postprandial lipemia. A key for the conversion of high density lipoproteins by hepatic lipase // J. Clin. Invest. - 1984. - Vol.74. - P.2017-2023).

4. Вдруге беруть кров із ліктьової вени через 4 години після СЖН на біохімічне дослідження з визначенням ЗХС, ТГ, ХС ЛПВЩ.

5. СМФН виконують в стандартному режимі безперервно зростаючого навантаження на велоергометрії в положенні сидіння через 4 години після СЖН. Початкова потужність навантаження складає 300кг/хв, далі кожні 3хв. її підвищують на 300кг/хв. Велоергометрію продовжують до досягнення пацієнтом субмаксимальної частоти серцевих скорочень. Електрокардіограму реєструють до навантаження, під час виконання велоергометрії і протягом 5хв. після припинення навантаження (Преварский Б.П., Буткевич Г.А. Клиническая велоэргометрия. - К.: Здоров'я, 1985. - 80с.).

6. Протягом 5хв після припинення велоергометрії беруть кров із ліктьової вени на біохімічне дослідження з визначенням ЗХС, ТГ і ХС ЛПВЩ.

7. Припускають наявність спадкової схильності до ІХС у осіб з невідомим спадковим анамнезом при підвищенні рівня ЗХС на 10-15%, ТГ - не менш, ніж на 50%, зниженні ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 5% через 4 години після СЖН порівняно з вихідними значеннями натще.

8. Підтверджують наявність спадкової схильності до ІХС при невідомому спадковому анамнезі при подальшому підвищенні ЗХС більш, ніж на 15%, ТГ - більш, ніж на 75% і зниженні ХС ЛПВЩ не менш, ніж на 7% після виконання СМФН на велоергометрі порівняно з вихідними значеннями натще.

Можливість здійснення запропонованого способу підтверджується прикладами:

Приклад 1. Пацієнт Ю., 38 років, спостерігається у відділі генетики атеросклерозу Інституту терапії АМН України з 1999р.

Діагноз: ІХС. Стабільна стенокардія напруження 11 функціональний клас. СН 1 стадії. Гіпертонічна хвороба 11 стадії.

Фактори ризику ІХС в анамнезі: артеріальна гіпертензія з тривалістю протягом 5 років, дисліпопротеїдемія IV типу, ожиріння II ступеня, малорухомий спосіб життя, часте вживання висококалорійної їжі, психоемоційні перенавантаження. Спадкового анамнезу не знає.

Згідно з винаходом, пацієнту Ю. виконано визначення показників ліпідного профілю (ЗХС, ТГ, ХС ЛПВЩ) тричі: натще, через 4 години після СЖН і через 5хв. після велоергометрії, яку проведено в період ПХЛ. Динаміка показників наведена в таблиці 2.

Таблиця 2

Динаміка показників ліпідного профілю пацієнта Ю., 38 років, під впливом СЖН і СМФН на велоергометрії в період ПХЛ

Показники, що досліджуються	Етапи дослідження		
	Натще	Через 4год. після СЖН	Через 5хв. після СМФН в період ПХЛ
ЗХС (мг/дл)	184	210	219
динаміка в % від вихідного		+14,1	+19,0
ТГ (мг/дл)	204	309	361
динаміка в % від вихідного		+51,5	+77,0
ХС ЛПВЩ (мг/дл)	40	35	33
динаміка в % від вихідного		-12,5	-17,5

Висновок: Згідно з винаходом, у пацієнта Ю., 38 років, який не знає свого спадкового анамнезу, але має ІХС та її фактори ризику, СЖН через 4 години після його відтворення спричиняло підвищення ЗХС на 14,1%, ТГ - на 51,5%, зниження ХС ЛПВЩ на 12,5% від вихідного (натще). Виконання СМФН на велоергометрі в період ПХЛ сприяло подальшому погіршенню показників ліпідного профілю, а саме, підвищенню ЗХС на 19,0%, ТГ - на 77% і зниженню ХС ЛПВЩ на 17,5% від вихідних значень.

Приклад 2 . Хворий Х., 39 років, спостерігається у відділі генетики атеросклерозу Інституту терапії АМН України з 1999р.

Діагноз: ІХС. Стабільна стенокардія напруження I функціональний клас. Надшлуночкова екстрасистолічна аритмія. СН I стадії. Гіпертонічна хвороба II стадії.

Фактори ризику ІХС в анамнезі: епізоди підвищеного артеріального тиску з 1991р., дисліпопротеїдемія (ізолювана гіпоальфахолестеринемія), ожиріння II ступеня, паління протягом 11 років, контакт з похідними виробництва нафти і газу, психоемоційні перенавантаження. Спадковий анамнез уточнити не може.

Згідно з винаходом, пацієнту Х. визначено наступні показники ліпідного профілю: ЗХС, ТГ і ХС ЛПВЩ тричі (натще, через 4 години після СЖН і через 5хв. після СМФН на велоергометрії, яке пацієнт виконував в період ПХЛ). Динаміка показників наведена в таблиці 3.

Таблиця 3

Динаміка показників ліпідного профілю пацієнта Х., 39 років, під впливом СЖН і СМФН на велоергометрії в період ПХЛ

Показники, що досліджуються	Етапи дослідження		
	Натще	Через 4год. після СЖН	Через 5хв. після СМФН в період ПХЛ
ЗХС (мг/дл)	178	201	217
динаміка в % від вихідного		+12,9	+21,9
ТГ (мг/дл)	113	184	228
динаміка в % від вихідного		+62,8	+102,0
ХС ЛПВЩ (мг/дл)	38	36	35
динаміка в % від вихідного		-5,3	-7,9

Висновок: Згідно з винаходом, у пацієнта Х., 39 років з неуточненим спадковим анамнезом, який має ІХС та її фактори ризику через 4 години після СЖН спостерігалось підвищення ЗХС на 12,9%, ТГ - на 62,8% і зниження ХС ЛПВЩ - на 5,3% від вихідних рівней (натще). СМФН, що було виконано пацієнтом на велоергометрії в період ПХЛ, призвело до подальшого посилення атерогенних змін ліпідного профілю, а саме, підвищенню ЗХС на 21,9%, ТГ - на 102% і зниженню ХС ЛПВЩ на 7,9% від вихідних значень. В даному випадку виражена ПХЛ може бути одним із механізмів реалізації гіпоальфахолестеринемії (тобто зниженого рівня ХС ЛПВЩ), що вказує на тісний метаболічний зв'язок підвищеного після їжі рівня ТГ з низьким вмістом в крові пацієнта ХС ЛПВЩ.

Приклад 3. Хворий Ж., 51 рік, спостерігається у відділі генетики атеросклерозу Інституту терапії АМН України з 1996р.

Діагноз: ІХС. Стабільна стенокардія напруження III функціональний клас. Післяінфарктний кардіосклероз (Q-інфаркт міокарда задньої стінки лівого шлуночка, 1996р.). Екстрасистолічна шлуночкова аритмія. СН II А стадії, діастолічний варіант, II функціональний клас. Гіпертонічна хвороба III стадії.

Фактори ризику ІХС в анамнезі: артеріальна гіпертензія протягом 6-8 років; часті гострі респіраторні інфекції, двічі - пневмонія; психоемоційні перенавантаження; дисліпопротеїдемія ІІ а типу (гіперхолестеринемія). Спадкового анамнезу не знає.

Згідно з винаходом, пацієнту Ж. визначено показники ліпідного профілю такі, як ЗХС, ТГ і ХС ЛПВЩ тричі: натще, через 4 години після СЖН і через 5хв. після СМФН на велоергометрі в період ПХЛ. Динаміка показників наведена в таблиці 4.

Таблиця 4

Динаміка показників ліпідного профілю пацієнта Ж., 51 року, під впливом СЖН і СМФН на велоергометрі в період ПХЛ

Показники, що досліджуються	Етапи дослідження		
	Натще	Через 4 год після СЖН	Через 5 хв після СМФН в період ПХЛ
ЗХС (мг/дл)	181	200	222
динаміка в % від вихідного		+10,5	+22,6
ТГ (мг/дл)	150	236	280
динаміка в % від вихідного		+57,3	+86,7
ХС ЛПВЩ (мг/дл)	46	42	40
динаміка в % від вихідного		-8,7	-13,0

Висновок: Згідно з винаходом, у пацієнта Ж., 51 року, який не знає свого спадкового анамнезу і має ІХС та її фактори ризику, СЖН через 4 години після його відтворення спричиняло підвищення в крові ЗХС на 10,5%, ТГ - на 57,3% і зниження ХС ЛПВЩ - на 8,7% від вихідних значень (натще). СМФН, яке виконувалось пацієнтом на велоергометрі в період ПХЛ, погіршувало ліпідний профіль, а саме, сприяло подальшому підвищенню ЗХС на 22,6%, ТГ - на 86,7% та зниженню ХС ЛПВЩ на 13% від вихідних рівней.

Таким чином, оцінка обраних у заявляемому способі інформативних діагностичних показників дозволила при використанні у медичній практиці діагностувати спадкову схильність до ІХС у осіб, які не знають свого спадкового анамнезу, але можливо мають мутації в аполіпопротеїнових генах.

Генотипи у трьох розглянутих хворих наступні:

пацієнт Ю. - X1X2, HVE<34;

пацієнт Х. - X1X2, HVE>36;

пацієнт Ж. - X1X1, HVE=34-36.

Отже, пацієнти Ю. і Х. є гетерозиготами за сайтом рестрикції Xba I (алель X2) гена аполіпопротеїду В (апоВ) з кількістю гіперваріабельних елементів (HVE) на 3'-кінці гена апоВ менш 34 і більш 36 відповідно. Пацієнт Ж. є гомозиготою за відсутністю сайту рестрикції Xba I гена апоВ з кількістю HVE на 3'-кінці 34-36.

Хоча сама Xba I мутація в гені апоВ не є структурною, але наявність мутантного алелю в генотипі, особливо в поєднанні з поліморфізмом 3'-кінця гена апоВ, вважається генетичними факторами, які детермінують дисліпопротеїдемію натще та після їжі (Regis-Bailly A., Fournier B., Steinmetz J. et al. ApoB signal peptide insertion/deletion polymorphism is involved in postprandial lipoparticles' responses // Atherosclerosis. - 1995. - Vol.118. - P.23-34.; Мустафина О.Е., Туктарова И.А., Пушкарева А. Э., Хуснутдинова Э. К. Исследование полиморфизма 3'-минисателлита гена аполипопротеина В у мужчин, перенесших инфаркт миокарда // Кардиология. - 1999. - №10. - С.46-51.).

Технічний результат.

Використання способу в медичній практиці забезпечує, у порівнянні з прототипом, можливість діагностувати спадкову схильність до ІХС, особливо у випадках, коли пацієнт не знає свого генеалогічного анамнезу і не витрачати час на складні, трудомісткі і дорогоцінні молекулярно-генетичні дослідження. Спосіб, що заявляється, є високоспецифічним (специфічність більш, ніж 90%, у прототипі - більш, ніж 85%). Чутливість способу перевищує 75% у порівнянні з прототипом (70%). Відтворення способу згідно винаходу - 97%.