



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: не действует (последнее изменение статуса: 02.07.2021)
Пошлина: Возможность восстановления: нет.

(21)(22) Заявка: [2011131413/15](#), 26.07.2011(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.07.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.07.2011

(45) Опубликовано: [27.02.2013](#) Бюл. № 6

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2400759 C1, 27.09.2010. US 5547873, 20.08.1996. ТВОРОГОВА М.Г. Липиды и липопротеины. Лабораторная диагностика нарушений липидтранспортной системы // Клин. и лаб. диагностика, 2008, №10, с.21-32. DE [BACKER G. et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. // Eur. Heart. J., 2003, v.24, pp.1601-1610.

Адрес для переписки:

634050, г.Томск, пр. Ленина, 30, ГОУ ВПО
"Национальный исследовательский Томский
политехнический университет", отдел правовой
охраны результатов интеллектуальной
деятельности

(72) Автор(ы):

Канская Наталья Викторовна (RU),
Твердохлебов Сергей Иванович (RU),
Позднякова Ирина Анатольевна (RU),
Федорова Нина Александровна (RU),
Пичугин Владимир Федорович (RU),
Канский Александр Викторович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
"Национальный исследовательский Томский
политехнический университет" (RU),
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
"Сибирский государственный медицинский
университет" Министерства здравоохранения
и социального развития Российской Федерации
(RU),
Учреждение Российской Академии
Медицинских Наук Научно-исследовательский
институт кардиологии Сибирского отделения
РАМН (RU)

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно кардиологии, и может быть использовано для оценки эффективности лечения ишемической болезни сердца. До и после лечения определяют липопротеин (а) (ЛП (а)) путем обработки 0,3 мл сыворотки крови 0,1% раствора Тритона X-100 и инкубации 15 мин при 20°C. Перемешивают смесь методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтеграцией, последующей инкубацией сыворотки крови больного с раствором судана Б в течение 1 ч в темном термостате при 40°C. Затем пробу вносят в лунку в геле агарозы размером 4×20×10 мм с последующей фиксацией электрофореграмм, их высушиванием, денситометрией. При снижении уровня ЛП (а) на 30% и более по сравнению с исходным уровнем и увеличением уровня ЛПВП более 30%, холестерина ЛП ВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более оценивают лечение ишемической болезни сердца как эффективное. Изобретение позволяет повысить точность оценки эффективности лечения ишемической болезни сердца, за счет определения уровней ЛП (а), разработанным способом, а также ЛПВП и холестерина до и после лечения. 6 ил., 2 пр.

Изобретение относится к области медицины и может быть использовано в кардиологии и терапии.

Известны способы разделения на фракции липопротеинов (ЛП) крови методом аналитического ультрацентрифугирования крови (А.Н.Климова, Н.Г.Никольчева. "Липиды, липопротеины и атеросклероз", 1995, Питер, пресс, с.98-102) и разделения на фракции ЛП в полиакриламидном геле (Н.Н.Шацкая "Биохимические исследования в оценке состояния сердечнососудистой системы." В кн. "Методы исследований в профпатологии", М., 1988, с.95-97).

Известны также способы разделения на фракции ЛП путем электрофореза в геле агарозы (Фенотипирование гиперлипидемий на основе электрофореза липопротеинов в геле агарозы, Лаб. Дело, 1980, №5, с.287-290);

RU 2099693 C1, 20.12.1997. RU 2102767 C1, 20.01.1998. SU 1334087 A1, 30.08.1987. US 5547873 A, 20.08.1996.

Недостатком данных способов является то, что они не позволяют выявить все фракции ЛП крови, включая ХМ, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП и ЛП (а), а служат для

разделения на фракции ХМ, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП от комплекса альбумина с неэтерифицированными жирными кислотами.

Известен также способ определения фракций липопротеинов крови у больных ишемической болезнью сердца (RU №2200950 C2 G01N 33/49, 20.03.2003, Бюл.№8.)

Данный способ является наиболее близким к предлагаемому по технической сущности и достигаемому результату и выбран в качестве прототипа.

Недостатком способа-прототипа является малая точность, так как он не позволяет выявить минорные фракции ЛП. Важно, что для ранней диагностики заболевания необходимо выявление минорной фракции ЛП (а).

Задачей предлагаемого изобретения является повышение точности и чувствительности способа.

Указанная задача решается разделением на фракции липопротеинов крови у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) электрофорезом в геле агарозы, путем исследования сыворотки крови до и после лечения, отличающегося тем, что определяют уровень ЛП (а) с помощью дополнительной обработки 0,3 мл сыворотки крови 0,1 мл 0,1% раствора Тритона X-100 и инкубации 15 минут при 20°C, перемешивают смесь методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтеграцией, последующей инкубацией сыворотки крови больного с раствором судана Б в течение 1 ч в темном термостате при 40°C, и затем внесения пробы в лунку в геле агарозы с помощью основания 4×20 мм для электрофореза ЛП и последующей фиксации электрофореграмм, их высушиванием, денситометрией и при снижении уровня ЛП (а) на 30% и более по сравнению с исходным уровнем, увеличением уровня ЛПВП на 30% и более, холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более оценивают лечение ишемической болезни сердца как эффективное.

Новым в предлагаемом изобретении является дополнительная инкубация 0,3 мл пробы сыворотки крови пациента с 0,1 мл 0,1% раствора детергента тритона X-100 при 20°C в течение 15 мин, перемешивание смеси методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтеграция, что позволяет лучше выявлять минорные фракции ЛП крови, ЛПВП, холестерина ЛПВП и исследовать их в динамике до и после лечения.

Исследование ЛП разных классов при диагностике ишемической болезни сердца (ИБС) рекомендовано Всероссийским научным обществом кардиологов согласно положению рекомендаций Европейского общества по изучению атеросклероза - «Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза» (г.Москва, 2005 г.; Клиническая лабораторная диагностика, №10, 2008 г., с.21-32).

В настоящее время перспективными являются методы исследования липидов с детергентами /Тритон X-100 и др./ В лабораторной практике все больше используются прямые или гомогенные методы определения липопротеинов (ЛП) и их липидов. Такие методы основаны на использовании различных детергентов, способных блокировать или солубилизировать классы ЛП для специфического выделения ЛПВП, ЛПНП и других фракций ЛП.

При использовании таких методов изоляция других классов ЛП не требует дополнительных операций, и концентрацию холестерина (ХС) в классах ЛП можно определить напрямую в сыворотке крови общепринятыми ферментными методами в той же кювете («Клиническая лабораторная диагностика», №10, 2008 г., с.21-32).

Увеличение концентрации ЛП abnormal или ЛП (а) в крови считают независимым фактором риска атеросклероза. При содержании в крови ЛП (а) более 300 мкг/мл при норме 0-300 мкг/мл риск возникновения коронарного атеросклероза увеличивается вдвое, а при одновременном повышении уровня ЛП (а) ХС и ХС ЛПНП - в 5 раз (J.A. M.A. - 2001. - Vol.285. - p.2486-2497, Eur. Heart. J. - 2003. - Vol.24, - p.1601-1610).

Итак, в настоящее время особое внимание уделяется исследованию ЛП (а), в связи с чем разрабатываются способы лабораторной диагностики, позволяющие исследовать этот липопротеин крови. Он относится к апо-В-содержащим липопротеинам, богатым холестерином (ХС). ЛП(а) идентичен "тонущим" пре-β-ЛП (sinking pre-β-Lp), имеющим при электрофорезе подвижность пре-β-ЛП. ЛП (а) содержат 27% белка, 8% углеводов и 65% липидов, из которых ЭХС составляют 59%, НЭХС - 14%, ФЛ - 14%.

Белковым компонентом ЛП (а) является высокогликозилированный полипептид - апо (а), имеющий близкое структурное сродство к плазминогену - одному из факторов системы свертывания-противосвертывания крови. При росте концентрации ЛП (а) в крови нарушаются процессы микроциркуляции в кровеносных артериях с возможным образованием микротромбов.

Благодаря наличию в структуре апо (а) сиаловых кислот, ЛП (а) более отрицательно заряжен по сравнению с β-ЛП в электрическом поле, лучше растворим в воде, может взаимодействовать с ионами металлов (кальция). Этот липопротеин гетерогенен. Все это свидетельствует об особой роли ЛП (а) в атерогенезе.

ЛП (а) могут взаимодействовать с ЛПНП-рецепторами, оказывая слабое влияние на активность ГМК-КоА редуктазы, на этерификацию ХС. Период полураспада ЛП (а) длинее, чем у ЛПНП, и составляет 3,3 сут. Содержание ЛП (а) в крови в норме не

превышает 30 мг/л. При высокой концентрации в крови ЛП (а) выявляется в местах поражения сосудов в области скопления фибриногена. Повышенная концентрация ЛП (а) часто сочетается с II^а, II^б типами гиперлипидемий. Поэтому в клинической практике крайне важно определение ЛП (а), одновременно с определением белков острой фазы воспаления. Установлено, что большинство гиполипидемических препаратов не влияет на повышенный уровень ЛП (а). Мировые популяционные исследования показали, что ЛП (а) представляет собой самостоятельный и независимый фактор риска ИБС - наиболее тяжелого проявления атеросклероза.

Фракция ЛП (а) гетерогенна. Установлено, что при электрофорезе ЛП (а) находятся в области β-глобулинов, но до 5% ЛП (а) при этом могут выявляться в области α-глобулинов.

По причине такой выраженной гетерогенности достаточно сложно оценить при электрофорезе всю фракцию ЛП (а), а тем более ее минорные подфракции, которые могут остаться на линии старта, если размер их частиц достаточно велик. Поэтому использование общепринятого в исследованиях последнего пятидесятилетия детергента Тритон Х-100 для обработки сыворотки крови, а именно липопротеинов крови, ведущее к частичной делипидизации ЛП и увеличению их подвижности при электрофорезе, позволяет выявить минорные фракции ЛП (а). Поскольку ЛП (а) наиболее атерогенен, очень важно на ранних стадиях заболевания выявлять максимальное содержание ЛП (а) в крови каждого пациента. Это позволяет диагностировать ИБС еще до стадии значительных изменений других клинико-лабораторных показателей, повышает точность диагностики заболевания. В свою очередь таким пациентам рано назначается патогенетически обоснованная терапия. Не менее важно выявление минорных фракций ЛП (а) для оценки эффективности терапии заболевания и прогнозирования течения ИБС.

Все сказанное свидетельствует о крайней важности разработки способов лабораторной диагностики, позволяющих наиболее полно выявлять ЛП (а), включая и минорные фракции ЛП (а) как предиктора атеросклероза, инфаркта миокарда и ишемического инсульта.

Существенные признаки, характеризующие изобретение, проявили в заявляемой совокупности новые свойства, явным образом не вытекающие из уровня техники в данной области и неочевидные для специалиста.

Идентичной совокупности признаков не обнаружено при изучении патентной и научно-медицинской литературы. Данное изобретение может быть использовано в практическом здравоохранении для повышения точности диагностики у больных ИБС.

Таким образом, следует считать данное техническое решение соответствующим условиям патентоспособности: «Новизна», «Изобретательский уровень», «Промышленная применимость». Изобретение будет понятно из следующего описания и приложенных рисунков.

На фиг.1 представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови: а - в группе контроля способом-прототипом, б - в группе контроля предлагаемым способом;

На фиг.2 (а, б) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови больных ИБС до лечения (I группа);

На фиг.3 (а, б) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови больного ИБС по способу-прототипу, а на фиг.4 (а, б) представлены результаты через 24 дня после лечения ИБС у пациентов I группы (фракции ЛПНП и ЛПОНП были менее интенсивны).

На фиг.5 (а, б) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП крови больного ИБС по способу-прототипу и предлагаемому способу.

На фиг.6 (а, б, в) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП крови больного ИБС по способу-прототипу и предлагаемому способу до и после лечения.

Способ осуществляется следующим образом поэтапно:

1) приготовление раствора судана Б: 400 мг судана Б растворяют в 20 мг этиленгликоля на кипящей водяной бане в течение 50 минут, фильтруют, хранят в стеклянной посуде;

2) приготовление геля агарозы: 320 мг агарозы А фирмы "Sigma" растворяют в 20 мл воды для кипячения, затем помещают в термостат при 55°C; добавляют 20 мл раствора альбумина (1 г альбумина в 200 мл вероналмединалового буфера, рН 8,6). 3 мл геля агарозы наносят на обезжиренное горизонтально установленное предметное стекло, помещают металлический стальной стержень-брусочек 4×20 мм (высотой 10 мм), который после застывания геля убирают магнитом;

3) к 0,3 мл пробы сыворотки крови пациента добавляют 0,1 мл 0,1% раствора тритона Х-100, инкубируют 15 мин при 20°C, перемешивают смесь методом встряхивания 120 раз в 1 мин, добавляют 0,15 мл раствора судана Б, помещают на 1 час в темный термостат при 40°C, затем добавляют 0,2 мл горячего раствора геля

агарозы, смешивают, подогревают при 55°C и подогретым вносят в лунку геля агарозы размером 4×20×10 мм;

4) предметное стекло помещают в камеру для электрофореза слоем агарозы вниз, электрофорез проводят в холодильной камере при температуре 4°C при напряжении 100 В и силе тока 40-45 мА;

5) электрофореграмму фиксируют в 5% растворе уксусной кислоты в течение одного часа, затем высушивают между листами фильтровальной бумаги, непрерывно смачивая 96% этиловым спиртом;

6) денситометрию проводят на микрофотометре МФ-4;

7) проводится спектрофотометрическое определение холестерина ЛПВП:

принцип метода: гепарин в присутствии ионов двухвалентного марганца вызывает осаждение пре β- и β-липопротеинов, α-липопротеины остаются в растворе.

Реактивы:

1. Хлористый марганец: марка 4, каталожный номер 120123.

2. Гепарин, фармакопейный, 5000 ед/мл.

3. Изопропиловый спирт, Ч, 150157.

4. Уксусная кислота ледяная, ХЧ, 190023.

5. Серная кислота, ХЧ, 170212.

6. Ортофосфорная кислота. Ч, 200200.

7. Хлорное железо, ХЧ, 070105.

8. Стандартный холестерин.

Приготовление реактивов

Раствор хлорида марганца 2 М: 39,58 г $MnCl_2 \times 4H_2O$ растворить в 100 мл дистиллированной воды. Раствор стабилен в течение длительного времени.

Основной раствор хлорного железа: 25 г $FeCl_3 \times 6H_2O$ растворяют при нагревании на водяной бане с температурой 80°C в 80 мл концентрированной ортофосфорной кислоты, охлаждают и доводят объем ортофосфорной кислоты до 100 мл. Хранят в посуде из темного стекла длительное время. Рабочий раствор хлорного железа: 8 мл основного раствора осторожно смешивают с 80 мл концентрированной серной кислоты и охлажденную смесь доводят серной кислотой до объема 100 мл. Раствор стабилен в течение месяца. Стандарт холестерина: 50 мг кристаллического холестерина растворяют в 100 мл изопропилового спирта; стандарт стабилен в течение длительного времени при хранении в холодильнике.

Ход определения

В пробирки помещают 1 мл сыворотки крови, добавляют 40 мл раствора гепарина и перемешивают, после этого приливают 50 мкл раствора хлорида марганца, тщательно перемешивают и помещают в лед на 30 мин.

Далее пробы центрифугируют в течение 10 мин при 2500 об/мин 200 мкл супернатанта переносят в пробирки, добавляют по 2,0 мл изопропилового спирта, встряхивают и для экстракции холестерина оставляют стоять 10 мин при температуре 20-25°C, затем центрифугируют 10 мин при 2500 об/мин. В пробирки переносят 600 мкл супернатанта, добавляют 1,2 мл ледяной уксусной кислоты и 1,2 мл рабочего раствора хлорного железа. Пробы инкубируют в течение 15 мин в водяной бане при температуре 37°C. Оптическую плотность проб измеряют при λ 540-560 нм против воды. В каждой серии определений ставят стандарт холестерина: 200 мкл стандартного раствора холестерина обрабатывают также, как и сыворотку. Контроль качества проводят с использованием контрольной сыворотки.

Расчет концентрации холестерина ЛПВП проводят на основании стандарта.

Нормальный уровень холестерина ЛПВП 0,88-2,09 ммоль/л.

Усовершенствование способа касается механического встряхивания пробы с частотой 120 раз в 1 мин на лабораторном встряхивателе для приготовления реактивов фирмы «Immunotech a.s.», Чехия. Более частое или длительное встряхивание ведет к повышению температуры пробы и появлению рекомбинантных форм липопротеинов крови, что препятствует дальнейшему проведению исследования и искажает результат электрофоретического анализа пробы. Менее короткий период встряхивания, равный 30 сек не позволяет улучшить результат исследования.

Далее сыворотку крови в течение 1 мин обрабатывают дезинтегратором "Microsonic TM" для полной дезинтеграции липопротеинов крови. Дезинтеграцию липопротеинов осуществляют Ultrasonic cell Disruptor производства Heat System YWC, 1938, New York 11735, Model Xh 2005, Serial NO, работающий с характеристикой электрического тока 50 вольт/ампер, мощностью 50 ватт, частотой тока 20 кГц.

При проведении повторного исследования после лечения величина фракции ЛП (а) до лечения принимается за 100% и рассчитывается процентное значение величины снижения фракции ЛП (а) после проведенной терапии ИБС и определяется процентное увеличение ЛПВП и холестерина ЛПВП после проведенной терапии.

В группе контроля в случае использования способа-прототипа (n=10) выявлены ХМ, ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП (фиг. 1а и б).

Авторами обследованы 2 группы больных ИБС по 15 для способа-прототипа - I

группа и 25 пациентов - II группа для проведения электрофореза ЛП с помощью предлагаемого способа.

У пациентов I группы до лечения выявились ХМ, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП (фиг.2а и б).

У пациентов II группы до лечения с наличием гиперхолестеремии (ГХС) в пределах 8,0-11,0 ммоль/л холестерина в крови (среднее значение ХС $9,3 \pm 0,8$ ммоль/л), кроме фракций ХМ, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП в зоне между ЛПНП и ЛПОНП выявлена фракция ЛП (а).

В случае использования способа-прототипа фракция ЛП (а) не выявлялась (фиг.3а и б).

После лечения ИБС через 24 дня у пациентов I группы фракции ЛПНП и ЛПОНП были менее интенсивными (фиг.4а и б) при росте интенсивности ЛПВП и росте холестерина ЛПВП.

После лечения ИБС через 24 дня у пациентов II группы выявились менее интенсивно выраженные фракции ЛПНП и ЛПОНП, как и в предыдущей группе. Фракция же ЛП (а) либо полностью отсутствовала у 9 пациентов, либо ее интенсивность снижалась более чем на 35% у 16 больных ИБС этой группы (см. клинические примеры). Среднее значение снижения уровня ЛП (а) у больных ИБС этой группы после лечения по сравнению с исходным составило $45 \pm 5\%$, а уровень ЛПВП увеличился до 30% и более, а холестерин ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более. Результаты лабораторного исследования анализировались в комплексе с клиническими данными. Заключение специалистов - лечение ИБС эффективное, о чем свидетельствуют не только данные клинического обследования пациентов, но и результаты лабораторных анализов.

Пример 1. Больной К., 56 лет, история болезни №38, поступил в отделение ИБС и атеросклероза НИИ кардиологии г.Томска. Жалобы при поступлении на боли в области сердца колющего характера. На ЭКГ рубцовые изменения в переднеперегородочной области. Велоэргометрия была прекращена при нагрузке 50 Вт о причине повышения артериального давления. АД 180/100 мм рт.ст., пульс в покое 68 уд. в мин. Боли купируются нитроглицерином.

Результаты лабораторного исследования: ХС общий - 9,8 ммоль/л; триацилглицериды - 1,8 ммоль/л; ХС ЛПВП - 0,9 ммоль/л. Результаты электрофоретического исследования ЛП крови по способу-прототипу представлены на фиг.5а, а по предлагаемому способу - на фиг.5б. Фракция ЛП (а) присутствует.

Диагноз при поступлении: ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения, ФК III-II.

После проведенного лечения результаты лабораторного исследования: ХС общий - 6,5 ммоль/л; триацилглицериды - 1,5 ммоль/л; ХС ЛПВП - 1,5 ммоль/л. Результаты электрофоретического исследования ЛП крови по предлагаемому способу представлены на фиг.6а. Фракция ЛП (а) отсутствует, а фракция ЛПВП возросла на 59% по сравнению с исходной, уровень холестерина ЛПВП увеличился на 66%.

Диагноз при выписке: ишемическая болезнь, стенокардия напряжения, ФК-II. Заключение: лечение эффективное.

Пример 2. Больной Ж., 64 года, история болезни №107, поступил в отделение ИБС и атеросклероза НИИ кардиологии г.Томска с жалобами на боли в области сердца, иррадиирующие под лопатку. На ЭКГ значительных изменений не выявлено. ВЭМ прекращена при нагрузке 50 Вт по причине возникшей боли за грудиной. На ЭКГ появилась косовосходящая депрессия сегмента ST в отведениях V4-V6. АД 170/90 мм рт.ст., пульс в покое 68 уд. в мин. Боли купируются нитроглицерином.

Результаты лабораторного исследования: ХС общий - 9,2 ммоль/л; триацилглицериды - 1,8 ммоль/л; ХС ЛПВП - 1,0 ммоль/л.

Результаты электрофореза ЛП крови до лечения по предлагаемому способу представлены на фиг.6б. Результаты денситометрии ЛП: ЛПНП - 59%, ЛПОНП - 21%, ЛПВП - 13%, ЛП (а) - 7%. Диагноз при поступлении: ИБС, стенокардия напряжения, ФК-III. После проведенного лечения результаты лабораторного исследования: ХС общий - 6,0 ммоль/л; триацилглицериды - 1,4 ммоль/л; ХС ЛПВП - 1,4 ммоль/л.

Результаты электрофоретического исследования ЛП крови по предлагаемому способу после лечения представлены на фиг.6в.

Результаты денситометрии ЛП: ЛПНП - 42%, ЛПОНП - 28%, ЛПВП - 28%, ЛП (а) - 2%.

Диагноз при выписке: ИБС, стенокардия напряжения, ФК II. Снижение уровня ЛП (а) более чем на 40% по сравнению с исходным, а холестерина ЛПВП на 40% свидетельствовало об эффективности лечения ИБС.

Итак, при применении способа-прототипа оценка эффективности терапии ИБС проводилась по клинической картине заболевания и уровню липидов крови, что свидетельствовало о недостаточной точности способа (см. фиг 4а и б). Оценка эффективности терапии по способу-прототипу не превышала 34%.

У 9 пациентов II группы (25 человек) ЛП (а) выявлены не были, поэтому оценка

эффективности терапии проводилась по клинико-лабораторным данным общепринятым методом.

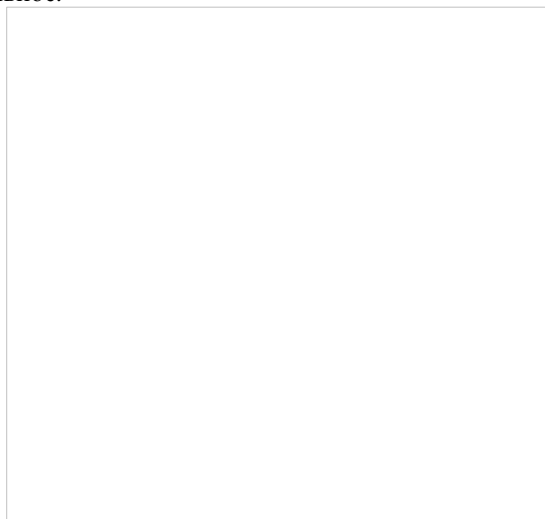
У остальных 16 пациентов выявлено слабо выраженная фракция ЛП (а), установлен рост ЛПВП и холестерина ЛПВП. Точность определения эффективности лечения ИБС составила у них 100%, т.к. после лечения фракция ЛП (а) либо не выявлялась, либо значительно снижалась. Следовательно, после комплексной терапии ИБС с помощью диеты, дозированной физической нагрузки, назначения препаратов, содержащих никотиновую кислоту с витаминами, применения нитратов пролонгированного действия, физиотерапевтического лечения ЛП (а) в сыворотке крови либо значительно снижались, либо достигали исходного значения и не выявлялись при электрофоретическом исследовании ЛП крови, а уровень ЛПВП значительно возрастал до 30% и более, концентрация холестерина ЛПВП увеличивалась с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более. Таким образом, использование предлагаемого способа позволило выявить у больных ИБС с выраженной ГЛП наличие ЛП (а) во фракции ЛП до лечения заболевания и полное отсутствие этой фракции или ее снижение на 30 и более процентов после лечения ИБС, одновременно с увеличением ЛПВП до 30% и более и холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более, что свидетельствовало о высокой эффективности проведенной терапии. Способ применен у 50 пациентов.

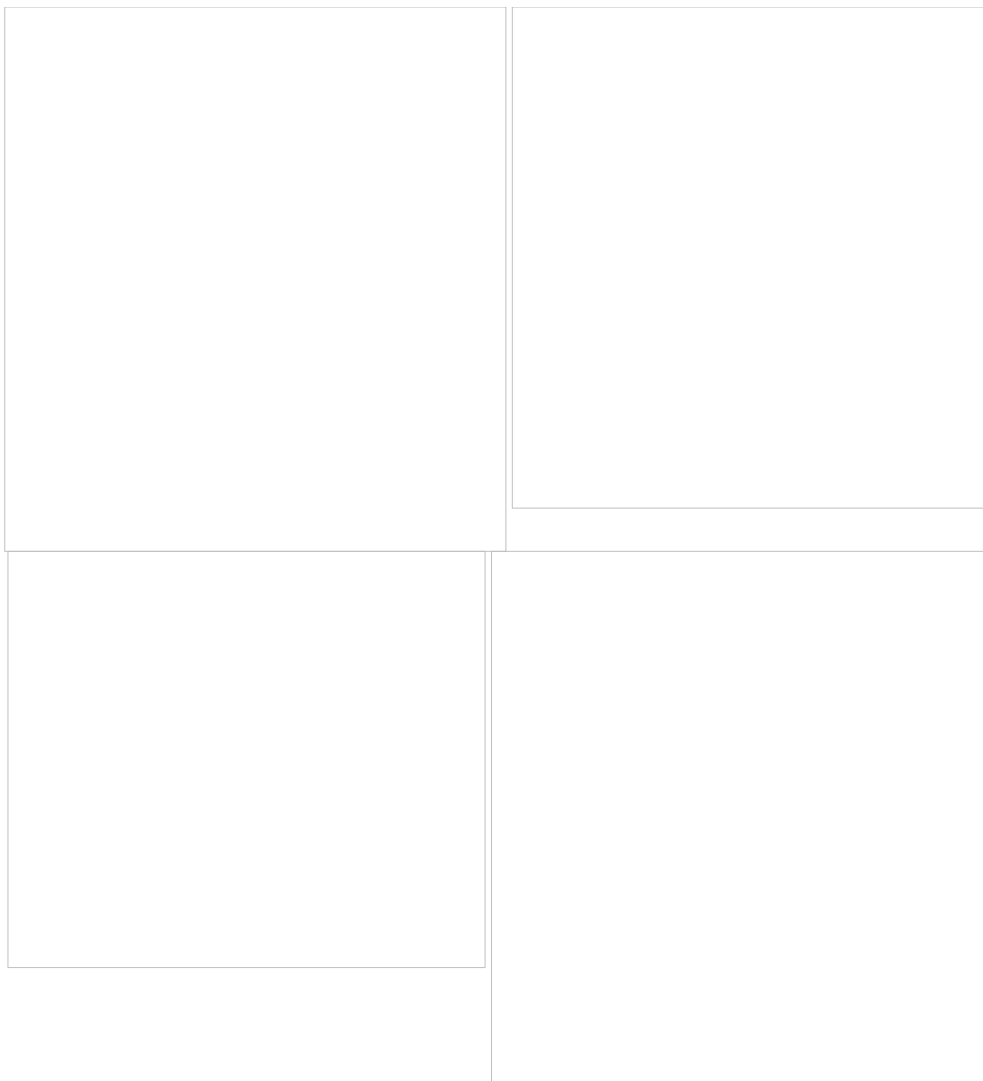
Применение предлагаемого способа определения эффективности лечения ИБС в отличие от способа-прототипа позволило выявить дополнительную фракцию ЛП (а), оценить ее снижение после проведенной курсовой терапии заболевания и рост ЛПВП и холестерина ЛПВП, что позволило повысить точность способа. С помощью способа-прототипа такие результаты получить не удалось, т.к. фракцию ЛП (а) выявить было невозможно ни до, ни после лечения ИБС. Ложноположительных случаев оценки эффективности лечения ИБС не наблюдалось.

При этом предлагаемый способ прост в использовании и интерпретации полученных результатов и может быть внедрен в клиническую практику.

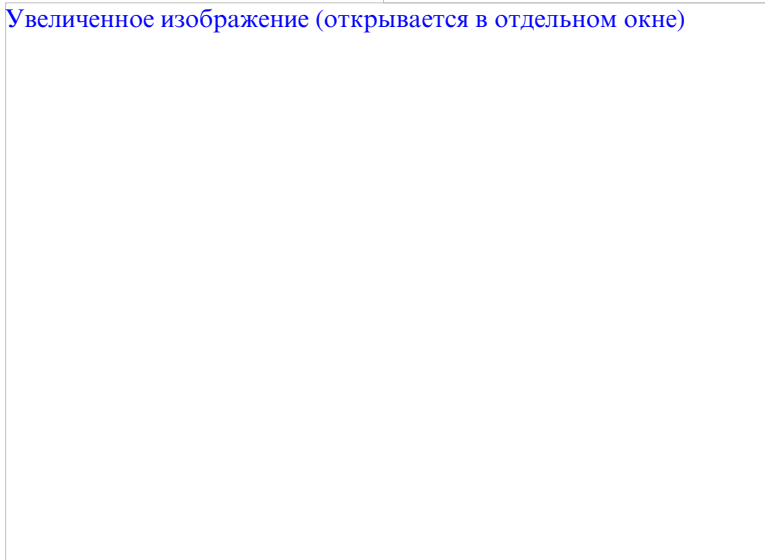
Формула изобретения

Способ оценки эффективности лечения ишемической болезни сердца путем исследования сыворотки крови до и после лечения, отличающийся тем, что определяют уровень ЛП (а) путем дополнительной обработки 0,3 мл сыворотки крови 0,1 мл 0,1%-ного раствора тритона X-100 и инкубируют 15 мин при 20°C, перемешивают смесь методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтегрицией, последующей инкубацией сыворотки крови больного с раствором судана Б в течение 1 ч в темном термостате при 40°C и затем внесения пробы больного в лунку в геле агарозы размером 4×20×10 мм с последующей фиксацией электрофореграмм, их высушиванием и денситометрией и при снижении уровня ЛП (а) на 30% и более по сравнению с исходным уровнем и увеличением уровня ЛПВП более 30%, холестерина ЛПВП с 0,8 ммоль/л до 1,6 ммоль/л и более оценивают лечение ишемической болезни сердца как эффективное.





[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)



ИЗВЕЩЕНИЯ

ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе

Дата прекращения действия патента: 27.07.2013

Дата публикации: [20.06.2014](#)

