



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: [2011132235/15](#), 29.07.2011(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.07.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.07.2011

(43) Дата публикации заявки: 10.02.2013 Бюл. № 4

(45) Опубликовано: [10.05.2013](#) Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2398239 C1, 27.08.2010. US 5547873, 20.08.1996. ТИТОВ В.Н. и др. Фенотипирование гиперлиппротеидемий на основе электрофореза липопротеидов в геле агарозы. Лаб. дело, 1980, №5, с.287-290. 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 ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно кардиологии, и может быть использовано для прогнозирования течения ишемической болезни сердца. Для этого до и после лечения одновременно определяют в сыворотке крови ЛПВП, общий холестерин и ЛП(а) путем дополнительной обработки 0,3 мл сыворотки крови 0,1% раствора Тритона X-100. Инкубируют 15 мин при 20°C. Перемешивают смесь методом встряхивания 120 раз в 1 мин, с дезинтеграцией, последующей инкубацией сыворотки крови с раствором Судана Б в течение 1 ч в темном термостате при 40°C. Затем вносят пробу в лунку в геле агарозы с площадью основания 4×20 мм для электрофореза. С последующей фиксацией электрофореграмм, их высушиванием, денситометрией. При одновременном снижении уровня ЛП(а) на 30% и более, а холестерина на 15% и более и увеличением ЛПВП более 30% и холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более по сравнению с исходным уровнем прогноз течения заболевания считают благоприятным. При снижении уровня ЛП(а) менее 30%, а общего холестерина менее 15% и увеличении ЛПВП менее 30% и холестерина ЛПВП менее 1,6 ммоль/л по сравнению с исходным прогноз считают неблагоприятным. Способ позволяет выявить минорные фракции ЛП крови в динамике, повысить чувствительность и точность способа за счет одновременной оценки липидных показателей. 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.Никульчева. "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 сердечно-сосудистой 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 гиперлиппротеинемий 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 неэстерифицированными 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. Фракция ЛП(а) является наиболее атерогенной, и для ранней диагностики заболевания особенно важно выявление минорной фракции ЛП(а), наряду с максимально полным определением фракций других ЛП крови. 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 дополнительной обработки 0,3 мл 0,1% раствора Тритона X-100 и инкубации 15 мин при 20°C, перемешиванием смеси 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 площадью основания 4x20 мм для электрофореза и последующей фиксацией электрофореграмм, их высушиванием, денситометрией и при одновременном снижении уровня ЛП(а) на 30% и более, а общего холестерина на 15% и более и увеличением ЛПВП крови более 30% и холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более по сравнению с исходным уровнем прогноз течения заболевания считают благоприятным, способствующим переходу стенокардии напряжения из функционального класса III-IV в функциональный класс I-II, а при снижении уровня ЛП(а) менее 30%, а общего холестерина менее 15% и увеличением ЛПВП менее 30% и холестерина ЛПВП менее 1,6 ммоль/л по сравнению с исходным прогноз считают неблагоприятным.

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, перемешиванием смеси методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтеграцией, что позволяет выявлять минорные фракции ЛП крови одновременно с определением уровня ЛПВП, холестерина ЛПВП, общего холестерина крови до и после лечения ишемической болезни сердца. 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 солюбилизовать 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).

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 1-рецепторами, оказывая слабое влияние на активность ГМК-КоА редуктазы, на эстерификацию ХС. Период полураспада ЛП(а) длиннее, 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^a, II^b типами гиперлиппротеинемий. 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 X-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) («Клиническая лабораторная диагностика», №10, 2008, с.21-32).

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

Метод основан на электрофоретической подвижности липопротеидов и одновременном определении общего холестерина крови.

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.

На фиг.3 (а, б) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови больных ИБС после лечения.

На фиг.4 (а, б) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови больных ИБС с гиперхолестеролемией.

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

На фиг.6 (а, б, в) представлены результаты электрофоретического разделения на фракции ЛП сыворотки крови по предлагаемому способу у больного ИБС после лечения, а также до и после лечения у другого пациента с ИБС.

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, pH 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 X-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) определяют спектрофотометрическим методом холестерин ЛПВП: принцип метода: гепарин в присутствии ионов двухвалентного марганца вызывает осаждение пре β- и β-липопротеинов, а ЛПВП 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 2М: 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 так же, как и сыворотку.

Контроль качества проводят с использованием контрольной сыворотки.

Расчет концентрации холестерина в альфа-липопротеидах проводят на основании стандарта.

Нормальный уровень холестерина в α -липопротеинах (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 Immimotech a.s., Чехия. Более частое или длительное встряхивание ведет к повышению температуры пробы и появлению ремнантных 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 "Microsome 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 килогерц.

Общий холестерин крови определяют стандартизированным методом в динамике. Предварительная обработка сыворотки крови раствором Тритон Х-100 не влияет на выполнение анализа.

Метод основан на измерении оптической плотности холестерина и его эфиров с реактивом Либермана-Бурхарда. Большая часть холестерина находится в сыворотке крови в этерифицированном виде, продукт реакции холестерина с указанным реактивом поглощает свет в той же области спектра и имеет несколько больший коэффициент экстинкции, чем продукт реакции свободного холестерина. Для учета этого различия, а также частичного учета маричных эффектов (влияния белков и билирубина на результаты анализа), калибровка метода проводится по калибровочной сыворотке, содержание холестерина в которой определено референтным методом Абея-Кендала.

Приготовление реактива Либермана-Бурхарда:

600 мл уксусного ангидрида и 300 мл уксусной кислоты наливают в двухлитровую колбу, помещают в ледяную баню и перемешивают на магнитной мешалке, затем приливают 100 мл охлажденной серной кислоты. Через 30 мин колбу удаляют из ледяной бани, ставят на мешалку и добавляют 20 г сульфата натрия, перемешивают до полного растворения соли 4-5 часов. Реактив стабилен 2 недели.

Ход анализа:

1. В сухие пробирки разливают по 5 мл реактива Либермана-Бурхарда, помещают в ледяную баню.

2. В первую пробирку наливают 0,2 мл дистиллированной воды) по стенке, медленно в течение 10 мин). Осторожно встряхивают и помещают в водяную баню.

3. С интервалом в 2 мин в остальные пробирки приливают по 0,2 мл исследуемой сыворотки, встряхивают, помещают в водяную баню.

4. Через 25 мин после добавления воды в первой пробирке измеряют оптическую плотность ее содержания против воды. Далее измеряют исследуемые пробы при длине волны (625 ± 10) нм.

5. Рассчитывают концентрацию холестерина в сыворотке крови по сравнению с калибровочной.

Для растворов продуктов реакции Либермана-Бурхарда закон Бугера-Ламберта-Бера соблюдается в пределах 0-400 мг/дл холестерина.

Количественную оценку фракций при денситометрии проводят следующим образом: определяют площадь каждого пика на хроматограмме по формуле $S = h \cdot B \cdot 1/2h$, где S - площадь пика, h - высота пика, $B \cdot 1/2h$ - ширина пика на половине его высоты.

Расчет проводится автоматически по соответствующей программе, и конечным результатом является процентное содержание каждой фракции ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП и ЛП(а), если она есть по отношению ко всей сумме фракций, принятой за 100%.

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

В группе контроля в случае использования способа-прототипа ($n=10$) (фиг.1а) и предлагаемого способа ($n=12$) (фиг.1б) выявлены ХМ, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП - это нормальная липидограмма. Оценен уровень общего холестерина крови, который составил у первых 10 пациентов $(4,7 \pm 0,2)$ ммоль/л и у второй группы пациентов, $n=12$, $(4,8 \pm 0,2)$ ммоль/л. Нами обследованы 2 группы больных ИБС до и после лечения по 10 пациентов для способа-прототипа - I группа и 30 пациентов - II группа для предлагаемого способа.

Диагноз пациентов: ИБС, стенокардия напряжения, ФК III-IV.

У пациентов I группы до лечения выявились ХМ, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП (фиг.2 а, б). Уровень холестерина сыворотки крови составил у них $(7,8 \pm 0,7)$ ммоль/л, холестерина ЛПВП $0,9 \pm 0,01$ ммоль/л. После лечения при электрофорезе ЛП фракции ЛПНП и ЛПОНП стали менее интенсивными (фиг.3а и б).

Уровень общего холестерина сыворотки крови после лечения составил $(5,6 \pm 0,5)$ ммоль/л, уровень холестерина ЛПВП $1,5 \pm 0,2$ ммоль/л.

Диагноз после лечения: ИБС, стенокардия напряжения, ФК II-III. Заключение: прогноз течения ИБС благоприятный, но недостаточно точный.

У 22 пациентов II группы с гиперхолестеролиемией выявлены при электрофорезе ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП, ЛП(а), ХМ (фиг.4а и б).

У остальных 8 пациентов группы фракция ЛП(а) не выявлена. Уровень общего холестерина у пациентов всей второй группы составил $9,0 \pm 0,8$ ммоль/л, уровень ЛПВП $13,0 \pm 1,4\%$, уровень холестерина ЛПВП $0,8 \pm 0,09$ ммоль/л.

После лечения ИБС у 9 пациентов выявлялась следовая трудно определяемая фракция ЛП(а), у 21 пациента ЛП(а) не выявлялась.

Уровень общего холестерина сыворотки крови после лечения составил во всей группе $6,5 \pm 0,5$ ммоль/л, а уровень ЛПВП $32,3 \pm 3,1\%$, холестерина ЛПВП $1,6 \pm 0,1$ ммоль/л. Диагноз после лечения у пациентов этой группы (29 человек): ИБС, стенокардия напряжения, ФК II. Заключение: прогноз течения ИБС благоприятный. Пациенты этой группы представлены в клинических примерах. У одного пациента второй группы при снижении общего холестерина крови после лечения уровень ЛП(а) в сыворотке крови оставался достаточно высоким. Динамики после лечения выявлено не было. Прогноз течения ИБС у этого пациента расценивался как неблагоприятный.

Ложноположительных и ложноотрицательных случаев нами не выявлено, т.к. оценивались только объективные критерии эффективности проводимой терапии ИБС: результаты велоэргометрии, частота приступов стенокардии и соответственно доза принятого глицерина, а также результаты лабораторных методов исследования, выраженные количественно.

Пример 1. Больной В, 58 лет, история болезни №112, поступил в отделение ИБС и атеросклероза НИИ кардиологии г.Томска. Жалобы при поступлении на боли в области сердца и за грудиной колющего характера с иррадиацией под лопатку. Боли возникали при физической нагрузке и снимались нитроглицерином. АД 180/90 мм рт.ст. Пульс в покое 68 уд. в мин. Велоэргометрия была прекращена при нагрузке 25 Вт по объективным причинам.

Результаты лабораторного исследования: ХС общий 7,9 ммоль/л, триацилглицериды 1,7 ммоль/л, ХС ЛПВП 0,8 ммоль/л, ЛПВП 14%.

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-IV.

После проведенного лечения результаты лабораторного исследования: ХС общий 5,5 ммоль/л, триацилглицериды 1,7 ммоль/л, ХС ЛПВП 1,6 ммоль/л, ЛПВП составляли 34%.

Результаты электрофоретического исследования ЛП крови по предлагаемому способу представлены на фиг.6а.

Фракция ЛП(а) отсутствует, фракция ЛПНП слабо выражена, фракция ЛПВП стала более интенсивной и составила 30%.

Диагноз при выписке: ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения, ФКП. Заключение: лечение эффективное. Прогноз течения ИБС благоприятный.

Пример 2. Больной Е, 65 лет, история болезни №119, поступил в отделение ИБС и атеросклероза НИИ кардиологии г.Томска с жалобами на давящие боли в области сердца и за грудиной, иррадирующие под лопатку и в шейную область. На ЭКГ значительных изменений не выявлено. Велоэргометрия была прекращена при нагрузке 50 Вт по причине возникшей боли за грудиной. Боли купируются нитроглицерином. На ЭКГ появилась косовосходящая депрессия сегмента ST в отведениях V4-V6. АД 170/110 мм рт.ст., пульс в покое 66 уд. в мин.

Результаты лабораторного исследования: ХС общий 8,7 ммоль/л, триацилглицериды 1,8 ммоль/л, ХС ЛПВП 0,9 ммоль/л.

Результаты электрофоретического исследования ЛП крови до лечения по предлагаемому способу представлены на фиг.6б. Результаты денситометрии ЛП: ЛПНП - 54%, ЛПОНП - 18%, ЛПВП - 15%, ЛП(а) - 7%.

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

После проведенного лечения результаты лабораторного исследования: ХС общий 6,0 ммоль/л, триацилглицериды 1,6 ммоль/л, ХС ЛПВП 1,7 ммоль/л.

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

Результаты денситометрии ЛП: ЛПНП - 40%, ЛПОНП - 25%, ЛПВП - 33%, ЛП(а) - 2%.

Диагноз при выписке: ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения, ФКП. Снижение уровня ЛП(а) на 58%, а общего холестерина на 25% и увеличение ЛПВП с 15% до 29% по сравнению с исходным, уровень ЛПВП 33%, холестерина ЛПВП 1,7 ммоль/л свидетельствовали об эффективности лечения ИБС. Заключение лечения: прогноз течения ИБС благоприятный.

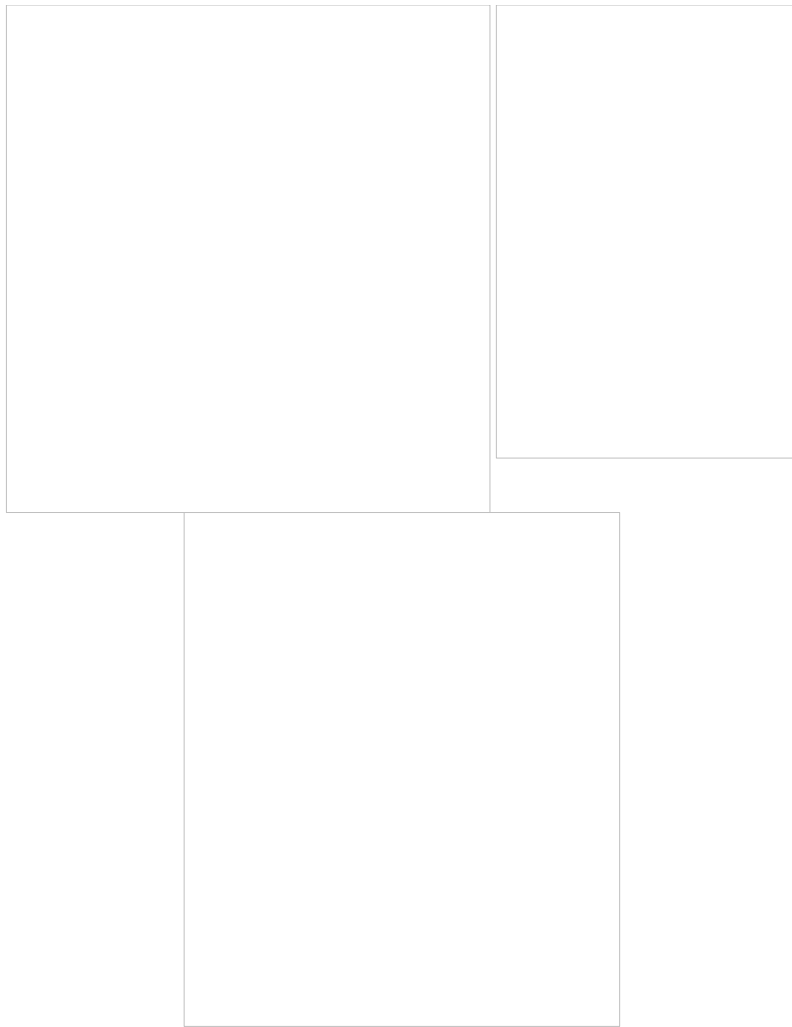
Итак, при применении способа-прототипа прогноз течения ИБС основывался на уровне общего холестерина сыворотки крови и клинических данных, поэтому был недостаточно точным. Способ применен у 40 пациентов и 22 пациентов группы

сравнения с диагнозом нейроциркуляторная дистония. При снижении уровня ЛП(а) на 30% и более и общего холестерина сыворотки крови на 15% и более и увеличении ЛПВП более 30%, холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более прогноз течения ИБС был оценен как благоприятный, о чем свидетельствовало изменение функционального класса (ФК) стенокардии напряжения, а при изменении только одного из показателей был установлен неблагоприятный прогноз течения ИБС (переход стабильного течения в нестабильную форму стенокардии).

Ложноположительных случаев прогнозирования течения ИБС при использовании предлагаемого нами способа не наблюдалось. При этом предлагаемый способ прост в исполнении и интерпретации полученных результатов.

Формула изобретения

Способ прогнозирования течения ишемической болезни сердца путем исследования сыворотки крови, отличающийся тем, что до и после лечения одновременно определяют в сыворотке крови ЛПВП, общий холестерин и ЛП (а) путем дополнительной обработки 0,3 мл сыворотки крови 0,1%-ным раствором Тритона X-100 и инкубации 15 мин при 20°C, перемешивания смеси методом встряхивания 120 раз в 1 мин, дезинтеграции, последующей инкубации 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 площадью основания 4×20 мм для электрофореза с последующими фиксацией электрофореграмм, их высушиванием, денситометрией и при одновременном снижении уровня общего холестерина на 15% и более и ЛП (а) на 30% и более и увеличением ЛПВП более 30%, холестерина ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более по сравнению с исходным уровнем прогноз течения заболевания считают благоприятным, способствующим переходу стенокардии напряжения из функционального класса III-IV в функциональный класс I-II, а при снижении общего холестерина менее 15%, уровня ЛП (а) менее 30% и увеличением ЛПВП менее 30%, холестерина ЛПВП менее 1,6 ммоль/л по сравнению с исходным прогнозом считают неблагоприятным.



ИЗВЕЩЕНИЯ

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

Дата прекращения действия патента: 30.07.2013

Дата публикации: [20.06.2014](#)