



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: [2013106038/15](#), 12.02.2013(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
12.02.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.02.2013

(45) Опубликовано: [27.06.2014](#) Бюл. № 18

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 94021424 A1, 27.09.1996. SU 1138131 A1, 07.02.1985. UA 30304 U, 25.10.2008. WO 2011060361 A1, 19.05.2011. VAN CRAEYVELD E. The relative atherogenicity of VLDL and LDL is dependent on the topographic site// J.Lipid.Res. 2010 Jun;51(6):1478-85

Адрес для переписки:

634012, г.Томск, ул. Киевская, 111а, ФГБУ  
"НИИ кардиологии" СО РАМН, Патентовед  
Н.Л. Малогина

(72) Автор(ы):

КАНСКАЯ НАТАЛЬЯ ВИКТОРОВНА (RU),  
ФЕДОРОВА НИНА АЛЕКСАНДРОВНА  
(RU),  
ПОЗДНЯКОВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА  
(RU),  
КАНСКИЙ АЛЕКСАНДР ВИКТОРОВИЧ  
(RU),  
ТВЕРДОХЛЕБОВ СЕРГЕЙ ИВАНОВИЧ  
(RU),  
ХВОРИЛОВА КСЕНИЯ ВЛАДИМИРОВНА  
(RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение "Научно-исследовательский  
институт кардиологии" Сибирского отделения  
Российской академии медицинских наук (RU),  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования  
"Национальный исследовательский Томский  
политехнический университет" (RU),  
Государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего профессионального  
образования "Сибирский государственный  
медицинский университет" Министерства  
здравоохранения Российской Федерации (RU)

## (54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ АТЕРОГЕННОСТИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины и предназначено для оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца. Перед исследованием проводят трехкратное замораживание и оттаивание сыворотки по 20 и 10 минут соответственно, дезинтеграцию, перемешивание смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут. Затем определяют аполипопротеин В, липопротеин(а), их соотношение, аполипопротеин А-I, общий холестерол, триацилглицерол и при снижении соотношения аполипопротеина В к липопротеину(а) на 20% и более, аполипопротеина А-I на 30% и более, увеличении общего холестерола на 18% и более, триацилглицерола на 16% и более по сравнению с исходным уровнем оценивают прогрессирование атерогенности при ишемической болезни сердца. Способ позволяет повысить точность оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца. 1 пр.

Изобретение относится к медицине и может быть использовано в кардиологии и терапии.

Известны способы разделения на фракции липопротеинов крови методом аналитического ультрацентрифугирования (А.Н.Климов, Н.Г.Никульчева. Липиды, липопротеины и атеросклероз. - Питер-Пресс, с.98-102).

Известны способы разделения на фракции липопротеинов (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 агарозе (Лаб. методы исследования. /Под редакцией В.В.Меньшикова. М.: Медицина, 1987, с.248-249), SU 1720015 A, 15.03.1992. RU 2063040 C1, 27.06.1996. RU 2115121 C1, 10.07.1998. RU 2097038 C1, 27.11.1997. RU 2060034 C1, 20.05.1996. EP 0074610 A, 23.03.1983.

Недостатком данных способов является то, что они не позволяют выявить все фракции апопротеинов, а именно аполипопротеинов В и липопротеинов (а). Под липопротеином (а) понимают аполипопротеин (а), т.е. апобелок липопротеина (а) (ЛП (а)). Термин используется в каталогах к реагентам биохимического анализатора Konelab (Финляндия) для определения апобелка ЛП (а). Поэтому в описании способа в связи с применяемым методом анализа используется термин липопротеин (а) вместо аполипопротеина (а).

Известен способ определения эффективности лечения ишемической болезни сердца (RU 2400759 С1, 27.09.2010).

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

Недостатком данного способа является то, что он не позволяет выявить аполипопротеин В и липопротеин(а). Это связано с тем, что липопротеин (а) с одной стороны является наиболее атерогенным, а с другой в норме выявляется в очень низкой концентрации и увеличивается в крови при липидемии атерогенного генеза. Следовательно, для оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца (ИБС), а также оценки эффективности лечения липидемии при ИБС особенно важно выявление липопротеина (а) наряду с максимально полным определением аполипопротеина В, соотношения аполипопротеина В к липопротеину (а), определения аполипопротеина А-I, общего холестерина и триацилглицерола крови до и после лечения.

Целью предлагаемого изобретения является повышение точности и эффективности способа.

Указанная цель достигается тем, что сыворотку крови до и после лечения перед исследованием обрабатывают трехкратным замораживанием и оттаиванием по 20 и 10 минут соответственно, дезинтегрируют, перемешивают смесь при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут, а затем определяют аполипопротеин В, липопротеин (а), их соотношение, аполипопротеин А-I, общий холестерол, триацилглицерол и при снижении соотношения аполипопротеина В к липопротеину (а) на 20% и более, аполипопротеина А-I на 30% и более, увеличении общего холестерина на 18% и более, триацилглицерола на 16% и более по сравнению с исходным уровнем оценивают прогрессирование атерогенности при ишемической болезни сердца (ИБС).

Новым в данном способе являются предварительная обработка сыворотки крови трехкратным замораживанием и оттаиванием по 20 и 10 минут соответственно, дезинтеграция, перемешивание смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут, что позволяет определить максимальную концентрацию аполипопротеина В, липопротеина (а), их соотношение, аполипопротеина А-I (апоА-I), общего холестерина, триацилглицерола для оценки прогрессирования атерогенности при (ИБС).

Следовательно, только комплексная модернизация способа-прототипа позволяет получить желаемый результат.

Каждый вновь введенный в формулу изобретения признак выполняет функцию повышения точности и эффективности способа. Трехкратное замораживание 0,5 мл сыворотки крови с последующим трехкратным оттаиванием в течение 20 минут и 10 минут соответственно, дезинтеграция, перемешивание смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут позволяют максимально выявить содержание аполипопротеина В и липопротеина (а), апо А-I, общего холестерина и триацилглицерола до и после лечения для оценки прогрессирования атерогенности при ИБС.

Исследование аполипопротеинов и липопротеинов разных классов при диагностике липидемии и ишемической болезни сердца (ИБС) рекомендовано Всероссийским научным обществом кардиологов согласно положению рекомендаций Европейского общества по изучению атеросклероза - «Диагностика и коррекция нарушения 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 и липопротеинов. В лабораторной практике все больше используются прямые методы определения липопротеинов (ЛП) и их аполипопротеинов, а именно методы иммунопреципитации.

Увеличение концентрации ЛП abnormal или ЛП (а) и его аполипопротеина (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), холестерина (ХС) и ХС ЛПНП - в пять раз (J.A. M.A. - 2001. - Vol.285. - P.2486-2497, Eur. Heart. J. - 2003. - Vol.24. - P.1601-1610).

Липопротеин (а) является предиктором атеросклероза, свидетельствует о генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям, фатальному и нефатальному инфаркту миокарда и ишемическому инсульту.

В настоящее время особое внимание уделяется исследованию фракции липопротеина (а), в связи с чем разрабатываются способы лабораторной диагностики, позволяющие в максимальной концентрации исследовать этот липопротеин крови. Он относится к апо-В-содержащим липопротеинам, богатым холестерином (ХС). ЛП (а) идентичен «тонущим» пре-В-ЛП (sinking pre-β-Lp), имеющим при электрофорезе подвижность пре-В-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 родство к плазминогену - одному из факторов системы свертывания-противосвертывания крови. При росте концентрации как ЛП (а), так и его модифицированных форм 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 и его модифицированные формы гетерогенны. Весло свидетельствует об особой роли ЛП (а) и модифицированных ЛП (а) в атерогенезе.

ЛП (а) может взаимодействовать с ЛПНП-рецепторами, оказывая слабое влияние на активность ГМК-КоА редуктазы, на этерификацию ХС. Период полураспада ЛП (а) длиннее, чем у ЛПНП, и составляет 3,3 суток. 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 П<sup>а</sup>, I<sup>1</sup> типами гиперлипидемий, при которых часто выявляются модифицированные ЛП. 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).

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 фракции, которые могут оставаться на линии старта, если размер их частиц достаточно велик. Поэтому использование иммуноприципитации при исследовании липопротеина (а) и аполипротеина В позволяет наиболее точно определить уровень этих липопротеинов в крови.

Обработка 0,5 мл сыворотки крови методом трехкратного замораживания и оттаивания, дезинтеграции и перемешивания смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут позволяет определить максимальную концентрацию аполипротеинов, общего холестерина, триацилглицерола в крови пациента.

Усовершенствование способа касается трехкратного замораживания и оттаивания по 20 и 10 минут соответственно крови пациента, дезинтеграции, перемешивания смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут до и после лечения с последующим определением аполипротеина В, липопротеина (а), их соотношения, аполипротеина А-I (апоА-I), общего холестерина, триацилглицерола.

Указанное выше время обработки сыворотки пробы является оптимальным. Проведение этой процедуры менее 20 минут и 10 минут или более 20 минут и 10 минут соответственно не улучшает результатов исследования аполипротеинов.

Поскольку липопротеин (а) наиболее атерогенен, очень важно на ранних стадиях заболевания выявлять максимальное содержание в крови липопротеина (а). Это позволяет диагностировать липидемию при ишемической болезни сердца 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 липопротеина (а) для оценки эффективности терапии заболевания, прогнозирования течения липидемии, а также оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца.

Все сказанное свидетельствует о крайней важности разработки способов оценки прогрессирования атерогенности при ИБС, позволяющих наиболее полно выявлять липопротеин (а), а также аполипротеин В, апоА-I и уровень общего холестерина и триацилглицерола крови.

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 оценки прогрессирования атерогенности при ишемической

болезни сердца.

Таким образом следует считать данное техническое решение соответствующим условиям патентоспособности: «Новизна», «Изобретательский уровень», «Промышленная применимость». Способ осуществляется следующим образом поэтапно:

1. 0,5 мл сыворотки крови трехкратно замораживают и оттаивают по 20 минут и 10 минут соответственно.

2. Далее 0,5 мл сыворотки крови обрабатывают дезинтегратором «Microsonic TM» для полной дезинтеграции липопротеинов крови и максимально точного определения концентрации общего холестерина крови. Дезинтеграцию липопротеинов осуществляют Ultrasonic cell Disruptor производства Heat systems, JWC, 1938, New York 11735, Model Xh 2005, serial NO, работающий с характеристикой электрического тока 50 вольт, 1 ампер, мощностью 50 ватт, частотой тока 20 килогерц.

3. Перемешивание смеси в пробе проводят с помощью шейкера ПЭ-6300М при 20°C и частоте колебания платформы 120 в минуту в течение 30 минут.

4. В сыворотке крови пациента определяют липопротеин (а) с помощью набора для Konelab.

Методика определения основана на измерении иммунопреципитации, усиленной полиэтиленгликолем (ПЭГ), при длине волны 340 нм. В анализатор Konelab устанавливается исследуемый образец сыворотки крови пациента либо образец сыворотки крови, разведенный разбавителем для образца в 2 раза в случае высокой концентрации липопротеина (а) в крови. Затем устанавливается реактив с буферным раствором, содержащий избыток специфической антисыворотки. В анализаторе автоматически проводится исследование пробы сыворотки крови пациента. Регистрируется увеличение поглощения света, вызванное иммунопреципитацией. Изменение светопоглощения пропорционально концентрации липопротеина (а), содержащегося в сыворотке крови пациента. Анализатор Konelab автоматически готовит серию из стандартного калибратора липопротеина (а) (код 981916) в соответствии с установленными параметрами. Калибровочная кривая строится исходя из значений, полученных при измерении отклика калибраторов с применением сплайнового сглаживания. Результат исследования пробы сыворотки крови пациента после ее реакции с антисывороткой к липопротеину (а) появляется на калибровочной кривой в виде точки. По горизонтали на графике указывается концентрация липопротеина (а) в мг/л, а по вертикали абсорбция (А). Следовательно, определяется значение абсорбции пробы, которая в автоматическом режиме обозначается результирующей концентрацией липопротеина (а), выраженной в мг/л. Выполнение анализа возможно вплоть до концентрации 8100 мг/л (8,1 г/л) липопротеина (а) и минимальном значении 30 мг/л.

Установленное значение нормы липопротеина (а) 31-150 мг/л. При липидемии атерогенного генеза уровень липопротеина (а) увеличивается в диапазоне 310-4200 мг/л (0,3-4,2 г/л).

Сравнительное исследование проводилось в соответствии с NCCLS документом EP-9A с использованием коммерческой нефелометрической методики, которая служила в качестве эталона с концентрацией липопротеина(а) в образцах 69-1622 мг/л.

5. В сыворотке крови пациента определяют аполипопротеин В с помощью набора для Konelab.

Методика определения основана на измерении иммунопреципитации, усиленной полиэтиленгликолем (ПЭГ), при длине волны 340 нм. В анализатор Konelab устанавливается исследуемый образец сыворотки крови пациента либо образец сыворотки крови, разведенный разбавителем для образца в 2 раза в случае высокой концентрации аполипопротеина В в крови. Затем устанавливается реактив с буферным раствором, содержащий избыток специфической антисыворотки. В анализаторе автоматически проводится исследование пробы сыворотки крови пациента. Регистрируется увеличение поглощения света, вызванное иммунопреципитацией. Изменение светопоглощения пропорционально концентрации аполипопротеина В, содержащегося в сыворотке крови пациента. Анализатор Konelab автоматически готовит серию из стандартного калибратора апо А-1/В: лиофилизированного на основе человеческого материала (концентрация аполипопротеина В в восстановленном калибраторе указана на этикетке флакона). Калибровочная кривая строится исходя из значений, полученных при измерении отклика калибраторов с применением сплайнового сглаживания. Результат исследования пробы сыворотки крови пациента после ее реакции с антисывороткой к аполипопротеину В появляется на калибровочной кривой в виде точки. По горизонтали на графике указывается концентрация аполипопротеина В в г/л, а по вертикали абсорбция (А). Следовательно, определяется значение абсорбции пробы, которая в автоматическом режиме обозначается результирующей концентрацией аполипопротеина В, выраженной в г/л. Выполнение анализа возможно вплоть до концентрации аполипопротеина В, равной 13,1 г/л при минимальном значении 0,05 г/л.

Установленное значение нормы для м. 0,63-1,88 г/л, для ж. 0,56-1,82 г/л при липидемии атерогенного генеза уровень аполипопротеина В увеличивается в диапазоне 1,9-13,1 г/л.

Сравнительное исследование проводится в соответствии с инструкцией к анализатору NCCLS документом EP-9A с использованием коммерческой нефелометрической методики, которая служила в качестве эталона с концентрацией аполипопротеина В в образцах 0,4-2,21 г/л.

Для более точной характеристики ранней стадии липидемии впервые было определено отношение аполипопротеина В к липопротеину (а) как наиболее атерогенной фракции липопротеинов.

Установлено нормальное значение отношения аполипопротеина В к липопротеину (а), превышающее 20,6. Значение этого соотношения снижается при липидемии и становится меньше 20,5.

6. В сыворотке крови пациента определяют аполипопротеин А-I с помощью набора для Konelab.

Аполипопротеины А образуют большинство основных протеинов, обнаруживаемых в липопротеинах высокой плотности, а также встречаются в хиломикронах. Примерно 50% массы липопротеинов высокой плотности принадлежит белкам, преимущественно Апо А-I и А-II. Количества А-I и А-II соотносятся примерно как 3:1. Апо А-I и А-II образуются в кишечнике и печени. При попадании в кровь после выделения из кишечника в виде фрагментов хиломиконов Апо А-I и А-II накапливаются в ЛПВП. Некоторые частицы липопротеинов содержат только аполипопротеин А-I, а другие частицы содержат как А-I, так и А-II.

Аполипопротеин А-I играет роль в активации ЛХАТ (лецитинхолестеринацилтрансферазы) и выведении свободного холестерина из внепеченочных тканей. Высокое содержание Апо В и низкое содержание Апо А-I указывает на повышенный риск развития липидемии при ишемической болезни сердца. Метод основан на измерении иммунопреципитации, усиленной полиэтиленгликолем (ПЭГ), при 340 нм. В образцы с буферным раствором добавляется избыток специфичной антисыворотки. Затем регистрируется увеличение поглощения света, вызванное иммунопреципитацией, когда реакция достигает своей конечной точки. Изменение светопоглощения пропорционально количеству антигена (аполипопротеина А-I), содержащегося в растворе.

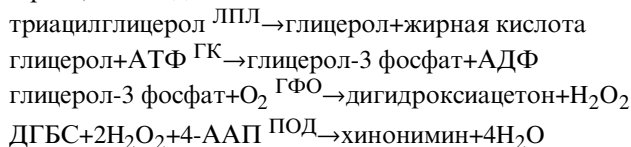
Результаты вычисляются автоматически анализатором Konelab с использованием калибровочной кривой. Анализатор автоматически готовит серии из стандартного калибратора в соответствии с установленными параметрами разведения. Калибровочная кривая строится исходя из значений, полученных при измерении ответа калибраторов, с применением сплайнового сглаживания.

Границы норм для мужчин 1,09-1,84 г/л, для женщин 1,06-2,28 г/л.

7. Холестерол определяли набором ThermoFisher для Konelab. Холестерол определяют энзиматическим методом. Холестерол окисляется холестеролоксидазой до холестенона и перекиси водорода. В результате реакции пероксида водорода с несколькими реагентами образуется хромофор, оцениваемый количественно при 550 нм. Результат вычисляется автоматически с использованием калибровочной кривой.

8. Триглицерол определяли набором ThermoFisher для Konelab энзиматическим методом.

Принцип метода:



Интенсивность окраски реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации триглицеридов в пробе. Нормальные величины в сыворотке крови - до 1,71 ммоль/л. В анализатор Konelab устанавливается исследуемый образец сыворотки крови пациента. Затем устанавливается рабочий реагент. Автоматически производится исследование пробы. Регистрируется оптическая плотность раствора, пропорциональная полученной окраске раствора. Калибровочная кривая строится исходя из значений, полученных при измерении отклика калибраторов с применением сплайнового сглаживания.

Описываем возможные осложнения при выполнении исследования и способы их устранения.

Предотвращение возможных ложноположительных и ложноотрицательных результатов связано с предельно точным выполнением методов исследования. Ложноположительный результат возможен крайне редко и может быть обусловлен только нарушением техники разведения сыворотки крови при высокой концентрации в ней липидов. Перед установкой реагентов на борт анализатора Konelab необходимо удостовериться в отсутствие пузырьков во флаконах и на поверхности реагентов.

Для подтверждения работоспособности предлагаемого способа и достижения технического результата были обследованы группа контроля (n=10) и группа больных ишемической болезнью сердца (ИБС), т.к. в основе патогенеза ИБС лежит липидемия атерогенного генеза (n=20). Обе группы обследованы с помощью предлагаемого способа и способа-прототипа. В группе контроля в случае использования способа-прототипа и предлагаемого способа липопротеины (а) не выявлены либо выявлены в минимальной концентрации до лечения и после лечения.

Группа больных ИБС обследована по способу-прототипу, предлагаемому способу и повторно обследована по предлагаемому способу через 2 месяца для оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца.

В группе больных ИБС выявлены липопротеины низкой и очень низкой плотности, липопротеины (а), оценен уровень общего холестерина, триацилглицерола, но аполипотеины не определяются. Липидемия атерогенного генеза до лечения выявлена в 55% случаев, т.е. у 11 пациентов из 20 больных ИБС, а после лечения в 35% случаев, т.е. у 7 пациентов. Таким образом, эффективность лечения липидемии составила 20%.

В группе больных ИБС, обследованных по предлагаемому способу, определены аполипотеины В, липопротеины (а) с расчетом их соотношения, которое составило  $15,3 \pm 2,0$ , то есть сниженного по сравнению с нормой (значительно ниже 20,5). Определялся также уровень Апо-А1, который составил  $1,9 \pm 2$  г/л; холестерол общий  $7,9 \pm 0,7$  ммоль/л, триацилглицерол  $1,7 \pm 1,9$  ммоль/л. Липидемия выявлена у 14 из 20 обследованных пациентов на самых ранних стадиях заболеваний, т.е. в 70% случаев.

Далее в течение 4 недель этим пациентам назначалась гипохолестеринемическая диета, которая не привела к нормализации указанных показателей. Холестерол составил у них  $7,0 \pm 0,4$  ммоль/л, а отношение аполипотеина В к липопротеину (а)  $11,2 \pm 0,9$ . Следующим этапом лечения было назначение кардиостатина (код С10АА02) в дозе 10 мг/сут с исследованием уровня липидов через 4 недели. После проведенной терапии уровень холестерина крови составил  $6,3 \pm 0,6$  ммоль/л, триацилглицерола  $1,6 \pm 0,2$  ммоль/л, аполипотеин В снизился с  $1,9 \pm 0,2$  до  $1,3 \pm 0,1$  г/л, липопротеин (а) составил после лечения,  $0,07 \pm 0,006$  г/л, отношение аполипотеина В к липопротеину (а) было равно  $18,6 \pm 1,6$ , что свидетельствовало о высокой эффективности лечения липидемии. Липидемия у больных ИБС после лечения выявлена в 10% случаев. Следовательно, эффективность лечения липидемии при ИБС составила 58%, так как вместо 70% до лечения была выявлена после лечения в 12% случаев. При этом клинические данные свидетельствовали об отсутствии ксантомотоза, а течение стенокардии стало стабильным и характеризовалось снижением функционального класса заболевания с III до II, т.е. отмечалось улучшение клинического состояния пациентов. Далее в течение 2-х месяцев больные ИБС получали симптоматическое лечение. Им была рекомендована диета с ограничением приема животных жиров. Через 2 месяца амбулаторно было проведено повторное обследование с оценкой уровня липидов в крови. Концентрация аполипотеина В составила  $1,62 \pm 0,2$  г/л, липопротеина (а)  $0,17 \pm 0,014$  г/л, отношение АпоВ/Апо (а) было равно  $8,8 \pm 0,7$ , уровень апо А-I составил  $1,2 \pm 0,1$  г/л, холестерина общего  $8,9 \pm 0,7$  ммоль/л, триацилглицерола  $1,9 \pm 0,2$  ммоль/л. Следовательно, снижение отношения апопротеина В к липопротеину(а) превысило 20%, а апо-А1 - 30%, рост уровня общего холестерина превысил 18%, а триацилглицерола - 16% соответственно. Следовательно, в отсутствие коррекции уровня липидов в крови кардиостатином наблюдалось прогрессирование атерогенности при ишемической болезни сердца, а пациентам необходимо рекомендовать продолжение гиполипидемической терапии статинами при одновременном симптоматическом лечении и сохранении антиатерогенной диеты.

Таким образом, предлагаемый способ оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца после медикаментозной коррекции уровня липидов кардиостатином оказался наиболее точным, а также наиболее информативным по сравнению со способом-прототипом, поскольку новый способ в большинстве случаев позволяет выявлять уровень липопротеина (а), кроме остальных фракций липопротеинов и липидов при липидемии, соотношение аполипотеина В к липопротеину (а), уровень общего холестерина, триацилглицерола, что позволило провести эффективную оценку прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца.

Способ оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца позволил выявить начальные стадии липидемии атерогенного генеза, провести патогенетически обоснованную терапию малыми дозами кардиостатина, получить положительный результат, а затем оценить динамику течения заболевания и выявить прогрессирование атерогенности при ишемической болезни сердца без лечения статинами. Это стало возможным благодаря использованию нового коэффициента (отношение аполипотеина В к липопротеину (а)), характеризующего ранние стадии липидемии атерогенного генеза одновременно с определением апо А-I, общего

холестерола и триацилглицерола.

Для лечения больных липидемией при ИБС впервые были предложены расширенные показания к назначению кардиостатина, не только не противоречащие установленным МЗ Соцразвития РФ рекомендациям по применению кардиостатина, но и входящие согласно инструкции по применению кардиостатина в область официально рекомендуемых показаний уровня холестерина для назначения препарата. Используемая нами верхняя граница популяционной нормы значения холестерина оказалась несколько ниже общепринятой и составила 6,5 ммоль/л. Это позволило разработать новый способ оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца после прерванного курса лечения больных статином.

При оценке действия кардиостатина было установлено не только снижение уровня ХС, ТАГ, аполипопротеина В, но и уровня липопротеина (а) одновременно с ростом апо А-I, что было установлено впервые. Впервые была проанализирована динамика атерогенности после отмены препарата.

Итак, новый способ оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца позволил расширить диапазон использования кардиостатина для лечения ранних стадий липидемии атерогенного генеза, не противоречащий узаконенным рекомендациям по назначению кардиостатина, изложенным в инструкции по применению препарата и рекомендовать его повторные курсы.

Наиболее диагностически значимым критерием является выявление самых низких значений уровня липопротеина (а), что по нашим результатам важно как для лечения, так и для прогноза течения атеросклероза при лечении больных в липидной клинике.

Новый анализ полученных результатов позволяет выявлять липидемию на ранних стадиях заболевания, проводить своевременную гиполипидемическую терапию кардиостатином, что повышает точность и специфичность способа. По этому критерию интерпретации результатов уточняются наличие ранних стадий липидемии атерогенного генеза. Это позволяет оценить эффективность лечения липидемии кардиостатином и оценить динамику прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца после отмены статина.

Клинический пример: пациент В., 58 лет. Жалобы при поступлении на боли за грудиной и в области сердца, возникающие при физической нагрузке. Боли купируются нитроглицерином. Больного беспокоит одышка при физической нагрузке. АД 170/90 мм рт.ст., пульс в покое 66 ударов в минуту.

Результаты лабораторных исследований: ХС общий 7,3 ммоль/л, триацилглицерол 1,6 ммоль/л, ХС ЛПВП 0,9 ммоль/л, ХС ЛПНП 5,6 ммоль/л, ХС ЛПОНП 0,71 ммоль/л, аполипопротеин В 2,4 г/л, липопротеин (а) 0,35 г/л, отношение аполипопротеина В к липопротеину (а) 6,8, апо А-I 1,3 г/л

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

В течение 4 недель проводилось лечение кардиостатином в дозе 10 мг/сут.

Результаты повторного обследования: ХС общий 6,9 ммоль/л, триацилглицерол 1,5 ммоль/л, ХС ЛПВП 1,2 ммоль/л, ХС ЛПНП 4,4 ммоль/л, ХС ЛПОНП 0,69 ммоль/л, аполипопротеин В 1,87 г/л, липопротеин (а) 0,9 г/л, отношение аполипопротеина В к липопротеину (а) 20,6, апо А-I 1,3 г/л

Диагноз после курсового лечения кардиостатином: ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения ФК II.

Результат повторного обследования через 2 месяца после лечения кардиостатином: ХС общий 8,2 ммоль/л, триацилглицерол 1,9 ммоль/л, ХС ЛПВП 1,0 ммоль/л, ХС ЛПНП 6,3 ммоль/л, ХС ЛПОНП 0,86 ммоль/л, аполипопротеин В 1,6 г/л, липопротеин (а) 0,17 г/л, отношение аполипопротеина В к липопротеину (а) 8,7, апо А-I 1,2 г/л. Выявлено прогрессирование атерогенности при ИБС. Рекомендовано продолжение лечения кардиостатином.

Таким образом, эффективность нового способа связана с выявлением ранних стадий липидемии на разных стадиях течения ИБС для медикаментозной коррекции заболевания кардиостатином и заключается в возможности более точной лабораторной диагностики ранних стадий липидемии, а также ее коррекции кардиостатином. Впервые выявляется прогрессирование атерогенности после отмены статинов при ишемической болезни сердца. Точность способа связана с высокой воспроизводимостью.

Экономическая эффективность нового способа заключается в повышении точности выявления ранних стадий липидемии при ишемической болезни сердца (ИБС) для медикаментозной коррекции заболевания кардиостатином и разработки рекомендаций для повторного лечения статинами при ИБС, что уменьшает продолжительность лечения ИБС, значительно снижает стоимость профилактики обострений заболевания. При этом преимуществом предлагаемого способа является низкая трудоемкость, затратность и невысокая стоимость применяемого препарата. Метод не требует для исполнения дополнительных дорогостоящих реактивов и оборудования. Исключаются методические ошибки в анализе, что делает

предлагаемый способ экономически целесообразным.

При этом предлагаемый способ прост в использовании и интерпретации.

#### Формула изобретения

Способ оценки прогрессирования атерогенности при ишемической болезни сердца путем исследования сыворотки крови до и после лечения, отличающийся тем, что дополнительно перед исследованием проводят трехкратное замораживание и оттаивание сыворотки крови пациента по 20 и 10 минут соответственно, дезинтеграцию, перемешивание смеси при частоте 120 колебаний в минуту в течение 30 минут, а затем определяют аполипопротеин В, липопротеин (а), их соотношение, аполипопротеин А-I, общий холестерол, триацилглицерол и при снижении соотношения аполипопротеина В к липопротеину (а) на 20% и более, аполипопротеина А-I на 30% и более, увеличении общего холестерола на 18% и более, триацилглицерола на 16% и более, по сравнению с исходным уровнем оценивают прогрессирование атерогенности при ишемической болезни сердца.

#### ИЗВЕЩЕНИЯ

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

Дата прекращения действия патента: 13.02.2015

Дата публикации: [20.10.2015](#)