

---

**ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

---

**Наталья Викторовна Канская**

*Доктор мед наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск*

**Ирина Анатольевна Позднякова**

*Канд. биол. наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск*

**Владимир Васильевич Удут**

*Доктор мед наук, заслуженный деятель наук РФ, член-корр. РАН, зам. директора по научной и лечебной работе ТНЦМЦ РАН НИИФ и РМ им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск*

*Канд. мед. наук, заведующая отделением атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.*

**Федорова Нина Александровна**

### **АННОТАЦИЯ**

Новая медицинская технология предназначена для лабораторной диагностики липидемии атерогенного генеза путем исследования комплекса показателей: аполипопротеинов В и (а), липопротеинов крови (ЛП), определения уровня общего холестерина и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), с целью оценки эффективности лечения ишемической болезни сердца (ИБС) и последующей оптимизации терапии.

### **ABSTRACT**

Method diagnostics and analyses effectivity of pathogenesis due to timely appoint a therapy coronary atherosclerosis and ischemic heart disease. Diagnosis of different stages of lipidemia is conducted assording to the level of lipoproteins, cholesterol HDL, the proportion apolipoprotein В and (а).

**Ключевые слова:** липопротеины крови, аполипопротеины В и (а), ХС ЛПВП, гиперхолестеролемиа, дислипидемия, коронарный атеросклероз, ишемическая болезнь сердца.

**Key words:** lipoproteins, apolipoprotein В and (а), cholesterolemia, dislipoproteinemia, coronary atherosclerosis, ischemic heart disease.

### **Введение и новизна**

Медицинская технология предназначена для диагностики липидемии атерогенного генеза и включает комплексное исследование показателей липидтранспортной системы крови, таких как, аполипопротеинов В и (а), липопротеинов крови (ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП), уровня общего холестерина и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП). Новизна предлагаемой технологии заключается в дополнительной обработке сыворотки крови пациента 0,1%-м раствором тритона X100 и последующее определение аполипопротеина (а), ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, ХС ЛПВП, а также общего холестерина крови. При снижении ЛП(а) на 30%, уровня холестерина на 20% и более, увеличении ЛПВП на 30% и более, ХС ЛПВП с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более оценивают лечение ИБС как эффективное. Использование предлагаемого способа повышает точность и эффективность лечения липидемии при ИБС.

Задачами исследования являлось использование технологии, включающей дополнительную обработку сыворотки крови пациента 0,1%-м раствором тритона X100 и последующее определение аполипопротеина (а), ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, ХС ЛПВП, а также общего ХС крови. Использование предлагаемой технологии повышает точность диагностики липидемии при ИБС, а также позволяет оценить эффективность лечения ишемической болезни

сердца (ИБС). Новая медицинская технология проста в осуществлении и интерпретации полученных результатов.

Основанием создания новой медицинской технологии является то, что, ранее существующие способы определения фракций ЛП путем электрофореза, ультрацентрифугирования, иммунохимического анализа, не позволяют в полном объеме определить показатели - аполипопротеинов В и (а), а также их соотношение при одновременном определении общего ХС крови и ХС ЛПВП. Таким образом, создание новых методологических подходов исследования наиболее атерогенных фракций аполипопротеинов В, (а), оценки их соотношения с учетом уровня общего ХС и ХС ЛПВП позволяют наиболее эффективно и точно определить ранние стадии липидемии атерогенного генеза и оценить эффективность лечения липидемии. Определение этих показателей особенно актуально при прогнозировании течения атеросклероза, выборе тактики лечения и оценки эффективности проводимой терапии больных ИБС.

Теоретическим обоснованием создания новой технологии является то, что, прогрессирование осложнения атеросклеротического процесса сопровождаются изменением уровня липопротеин (а) – это особенный липопротеин (ЛП), который содержится в крови в очень низкой концентрации или отсутствует (норма содержания 0-300 мг/л). Он состоит из холестерина, аполипопротеина В (апо В)

и особого апобелка (а) иначе апо(а). Его плотность может быть близка и к ЛПВП и к ЛПНП. Синтезируется он в печени, а метаболизирует в почках до конечных продуктов обмена. Увеличение его концентрации в крови наблюдается при атеросклерозе и не корректируется диетой, физиотерапией и медикаментозными препаратами. ЛП(а) относят к патологическим ЛП, так как они крупнее ЛПНП, имеют большую плотность и гомологию с плазминогеном, что ведет к тромбообразованию. Их липидный состав близок к ЛПНП, но содержание белка больше за счет апо В-100 и апо(а). Апо(а), является гликопротеином синтезируемым только в печени и именно с ним связывают высокую атерогенность ЛП(а), так как взаимодействие апо(а) и апо В нарушает захват ЛП(а) клеточными и тканевыми апо В, Е-рецепторами. В результате ЛП(а) длительно циркулирует в крови, модифицируется, затем попадает в состав циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) крови, а далее путем эндоцитоза попадает в клетки. Поэтому при росте в крови концентрации ЛП(а) велик риск атеросклероза, его прогрессирования, осложнений течения заболевания в виде тромбоза. Усугубление процесса также обуславливается сопровождающимся снижением времени свертывания крови, характеризующим раннюю стадию тромбоза и артериальной гипертензии. Считается, что при увеличении концентрации ЛП(а) более 0,3 г/л увеличивается риск возникновения коронарного атеросклероза, а при одновременном повышении уровня ЛП(а), общего ХС, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), снижении ХС ЛПВП риск возрастает в 5 и более раз [4, с.29, 5, с. 96, 6, с.2973, 7, с. 35, 8, с. 1110].

#### Методика исследований

При выполнении исследования использовалась сыворотка крови больных ишемической болезнью сердца. Следует отметить, что к использованию новой медицинской технологии существуют как показания, так и противопоказания. Медицинскими показаниями являются ранние стадии ИБС, а к противопоказаниям относятся неотложные состояния. Абсолютным противопоказанием для проведения исследования крови являлась гиперлипотеинемия I типа по классификации Фредриксона (гиперхиломикронемия). Относительным противопоказанием для проведения исследования крови являлась гиперлипотеинемия V типа по классификации Фредриксона.

Этапы биохимического исследования при выполнении новой медицинской технологии изложены следующим образом:

1) предварительно готовят раствор Судана Б: 400 мг Судана Б растворяют в 20 мг этиленгликоля на кипящей водяной бане в течение 50 мин, фильтруют и хранят в стеклянной посуде;

2) предварительно готовят гель агарозы, путем использования 320 мг агарозы А фирмы "Sigma", с последующим растворением в 20 мл воды при

кипячении, затем помещают в термостат при 55 °С; добавляют 20 мл раствора альбумина (1 г альбумина в 200 мл веронал-мединалового буфера, рН 8,6). После чего 3 мл геля агарозы наносят на обезжиренное горизонтально установленное предметное стекло, помещают металлический стальной стержень-брусочек 20×4 мм (высотой 10 мм), который после застывания геля убирают магнитом;

3) далее проводят исследование: к 0,3 мл пробы сыворотки крови пациента добавляют 0,1 мл 0,1%-го раствора тритон X-100, инкубируют 15 мин при 20 °С, затем добавляют 0,5 мл раствора судана Б, помещают на 1 час в темный термостат при 40 °С, добавляют 0,2 мл горячего раствора геля агарозы, смешивают, подогревают при 55 °С 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 течение часа в холодильной камере при температуре 4 °С, при напряжении 100 В и силе тока 40-45 мА;

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

6) денситометрию проводят на микрофотометре МФ-4. Результаты анализа выражают в процентах.

Определение липидов крови выполнено на биохимическом анализаторе «Konelab». Уровень ХС ЛПВП оценивался после осаждения ЛП низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) марганец-гепариновой смесью.

Возможные осложнения и способы их устранения сводятся к точности выполнения метода. Предотвращение возможных ложноположительных и ложноотрицательных результатов связано с предельно точным выполнением новой медицинской технологии. 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 биохимического анализатора «Konelab» необходимо удостовериться в отсутствии пузырьков во флаконах и на поверхности реагента.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы STATISTICA 13.0. Применялись параметрические методы для распределений, которые согласуются с нормальным законом. Количественные значения для нормального распределения данных представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение, а  $m$  – ошибка среднего. Сравнение количественных показателей между группами проводилось с использованием критерия Стьюдента, а до и после лечения внутри групп с использованием критерия Вилкоксона. Для анализа силы связи между показателями рассчитывался

коэффициент корреляции Пирсона. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

#### Обобщение полученных результатов

Обследованы 2 группы больных ИБС:

I группа (15 пациентов) - ранее существующим способом электрофореза и

II группа (25 пациентов), путем проведения электрофореза ЛП с помощью, предлагаемой новой медицинской технологии.

У пациентов I группы до лечения выявлялись ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, фракция ЛП(а) не выявлялась. В течении курсового лечения динамики уровня липидов не установлено.

У пациентов II группы до лечения с наличием гиперхолестеролемии (ГХС) в пределах 8,0-11,0 ммоль/л ХС крови (среднее значение ХС, полученное с помощью программы STATISTICA 13.0 составило  $9,3 \pm 0,8$  ммоль/л), кроме фракций ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП в зоне между ЛПНП и ЛПОНП выявлена фракция ЛП(а). Уровень ХС ЛПВП изменялся в пределах 0,8-1,4 ммоль/л (среднее значение ХС ЛПВП  $1,2 \pm 0,2$  ммоль/л). Так у пациентов I группы фракции ЛПОНП и ЛПНП стали менее интенсивными при росте интенсивности фракции ЛПВП и увеличении концентрации 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. При этом фракция ЛП(а) либо полностью отсутствовала (у 9 пациентов), либо ее интенсивность снижалась более чем на 33% у 16 больных ИБС этой группы. 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, ХС ЛПВП - с 0,8 до 1,6 ммоль/л и более, при одновременном снижении общего ХС крови. 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 (патент № 2476883 «Способ оценки эффективности лечения ишемической болезни сердца» от 27.02.2013 г.).

#### Выводы

Предлагаемая новая медицинская технология позволяет с помощью электрофореза выявить даже ранние стадии липидемии атерогенного генеза при

ИБС. В результате применения новой медицинской технологии диагностики липидемии повышается точность и эффективность диагностики ранних стадий липидемии при ИБС. Полученные данные могут служить основанием для последующего проведения гиполлипидемической терапии и ее коррекции. Непосредственная эффективность – простота выполнения технологии, низкая ее стоимость, доступность всем клинико-диагностическим лабораториям медучреждений РФ. Полученные результаты доказывают безопасность, точность и эффективность новой технологии в лечении липидемии атерогенного генеза у больных ИБС.

#### Литература

1. Дислипидемия // Мед. вестник. Архив газеты. – 2009. - № 1617. – С. 485-486.
2. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеины и атеросклероз. – СПб. : Питер-пресс, 1995. - С. 98-102.
3. Творогова М.Г. Липиды и липопротеины. Лабораторная диагностика липидтранспортной системы // Клинич. лаб. диагностика. - 2008. - № 10. - С. 21-32.
4. Титов, В.Н. Различия конформации апоВ-100 в липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Модифицированные липопротеины и деструктивное воспаление в интиме артерий (лекция) / В.Н. Титов, В.А. Амелюшкина, Т.И. Коткина, А.В. Ариповский // Заочная академия последипломного образования. – 2014. – с.27-37.
5. Шацкая Н.Н. Биохимические исследования в оценке состояния сердечно-сосудистой системы / В кн. "Методы исследований в профпатологии". - М., 1988. - С. 95-97.
6. Lipoprotein(a): A missing culprit in the management of athero-thrombosis? /G. Ferretti, T. Bacchetti, T.P. Johnston, et al. // J Cell Physiol. – 2018. -233(4). – P. 2966-2981.
7. Orsó E, Schmitz G. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. / E. Orsó, G. Schmitz // Clin Res Cardiol Suppl. – 2017. - № 12 (1). – P.31-37.
8. Saeed A., Virani S. S. Lipoprotein(a) and cardiovascular disease: current state and future directions for an enigmatic lipoprotein / A. Saeed, S.S. Virani // Front Biosci (Landmark Ed). - 2018. - № 1(23). – P. 1099-1112.