

Изобретение относится к медицине, в частности к кардиологии, и предназначено для определения фазы деструкции и репарации формирования грануляционной соединительной ткани миокарда у больных инфарктом миокарда, необходимого для выработки индивидуальной и оптимальной тактики лечения.

Известен способ определения фазы течения инфаркта миокарда по состоянию заживления соединительной ткани зоны инфаркта [Т]. в соответствии с которым для характеристики фазы деструкции (некробиоза), а также фазы репарации и формирования грануляционной соединительной ткани миокарда используют определение общего количества и индекса сдвига лейкоцитов крови, предполагая, что в процессах миомаляции инфарцированного сердца главная роль принадлежит гранулоцитам, тогда как в формировании грануляционной ткани участвуют соединительнотканые клетки.

Недостатки прототипа заключаются в том, что изменение общего количества лейкоцитов и разные соотношения форменных элементов крови характеризуют неспецифические реакции организма, которые изменяются не только при инфаркте миокарда, но и под влиянием различных стрессов, зависят от возраста, тренированности организма и других факторов, что может привести к искажению характеристики процесса формирования грануляционной ткани и выбору неправильной тактики лечения (применение фармпрепаратов, дозирование нагрузки и др.). Кроме того, несовершенство техники подсчета и множество манипуляций при определении количества лейкоцитов требует большой затраты времени и снижает точность определения.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа определения фазы течения инфаркта миокарда, в котором изменением исследуемого показателя крови, выбранного в качестве маркера процессов, происходящих в грануляционной соединительной ткани сердца, обеспечивается однозначное соответствие между состоянием грануляционной соединительной ткани и величиной определяемого показателя крови, т.к. исключается влияние других факторов состояния организма больного на измеряемый показатель, и за счет этого повышается точность диагностики.

Поставленная задача решается тем, что в способе определения фазы течения инфаркта миокарда путем биохимического исследования крови в динамике, согласно изобретению, в качестве исследуемого показателя крови используют показатель уровня сульфатированных гликозаминогликанов -хондроитинсульфатов, повышение которого до 0,11-0,25 г/л (110-250% по сравнению с контрольным значением 0,1 г/л, принятым за 100%) соответствует фазе деструкции (некробиоза), а снижение до 0,09-0,04 г/л (90-40%) и ниже свидетельствует о наступлении фазы репарации и формирования грануляционной соединительной ткани.

Использование в качестве маркера процессов, происходящих в грануляционной соединительной ткани миокарда, такого показателя крови, как хондроитинсульфаты, позволяет с высокой точностью определить фазы формирования грануляционной соединительной ткани миокарда (деструкции и репарации) у больных после инфаркта и благодаря этому выработать оптимальную тактику лечения путем индивидуального подбора комплекса фармакологических препаратов и дозирования физической нагрузки. Это возможно потому, что выбранный показатель сыворотки крови - хондроитинсульфаты, во-первых, является специфическим для соединительной ткани миокарда, во-вторых, изменяется в соответствии со стадиями деструкции и репарации грануляционной ткани миокарда, оцениваемыми по общему количеству и индексу сдвига лейкоцитов.

Кроме того, выбор хондроитинсульфатов в качестве показателя состояния заживления соединительной ткани сердца после инфаркта дает возможность также сократить время и упростить процесс проведения исследования, т.к. методика определения хондроитинсульфатов довольно проста и занимает 15-20 минут. Уменьшается стоимость эксперимента за счет использования более доступных реактивов. Определение уровня хондроитинсульфатов в крови в качестве биохимической характеристики соединительной ткани сердца после инфаркта повышает точность диагностики, т.к. позволяет не только констатировать фазу деструкции или репарации, точное время наступления которых может варьировать у разных индивидуумов, но и степень интенсивности процесса. Так, изменения порядка 0,01-0,02 г/л (10-20%) расценивают как слабо интенсивные, а отклонения от нормы 0,05-0,15 г/л (50-150%) как проявление высокой степени интенсивности.

Заявляемый способ осуществляется следующим образом: у больного из локтевой вены стерильным шприцом берут 2 мл крови на 1,3,5,7,10, 20 и 30 сутки после инфаркта. Из полученной крови путем отстаивания при комнатной температуре в течение 20-30 минут с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 1500 об/мин отделяют сыворотку крови от кровяного сгустка. Для определения хондроитинсульфатов отбирают 0,1 мл полученной сыворотки больного инфарктом миокарда и смешивают с 5 мл ацетат-цитратного буфера, pH 5,5 и 0,1 мл 0,1 М водного раствора риванола. Измерение окрашенного в желтый цвет раствора после встряхивания пробы проводят на фотоэлектроколориметре (ФЭК) через 5 мин в течение 7-10 мин при светофильтре № 6. регистрируя оптическую плотность. В качестве контроля используют пробу, в которую добавлены 0,1 мл раствора риванола. Расчет производят с помощью калибровочного графика, построенного заранее с использованием растворов стандартного хондроитинсульфата различной концентрации: 0,2 г/л, 0,4 г/л, 0,6 г/л, 0,8 г/л, 1,0 г/л. Для получения калибровочной кривой в каждую из 5 пробирок, необходимых для ее построения, отбирают по 0,1 мл раствора хондроитинсульфата каждой концентрации, добавляют по 5 мл ацетат-цитратного буфера и 0,1 мл раствора риванола, перемешивают, измеряя оптическую плотность каждого из 5 растворов против контроля. На калибровочном графике по оси абсцисс откладывают значения концентрации каждого раствора, по оси ординат - соответствующее значение оптической плотности: 0,1; 0,21; 0,3; 0,39; 0,52. Растворы хондроитин-сульфата готовят на дистилляте. Ацетат-цит-ратный буфер готовят смешиванием в равных пропорциях ацетатного (а) и цитратного (б) буферов с последующим прибавлением к смеси 0,39 г хлористого натрия на каждые 100 мл. При этом (а) получают путем смешивания 10 мл 0,6% раствора уксусной кислоты и 90 мл 0,16 М уксуснокислого натрия, (б) получают путем смешивания 72,3 мл раствора, содержащего 2,1 г лимонной кислоты, 20 мл 1М NaOH и H₂O до 100 мл с 27,7 мл 0,1М NaOH. Раствор риванола перед употреблением необходимо профильтровать. Значения концентрации хондроитин- сульфатов в сыворотке крови у больных острым инфарктом миокарда на 1,3,5,7,10,20 и 30 сутки сравнивали с уровнем этого показателя в сыворотке крови здоровых людей (того же возраста), где он составлял 0,1±0,01 г/л. При увеличении этого показателя до 0,12-0,22 г/л констатируют фазу

деструкции, при уменьшении до 0,09-0,04 г/л и ниже - констатируют фазу репарации. Уровень изменения хондроитинсульфатов в сыворотке крови характеризует и степень интенсивности процесса: отклонения от нормы на 10-20% можно расценивать как слабо интенсивные, а на 50-200% и выше - как очень интенсивные.

Пример. Больной 3.. 41 год, поступил в клинику с острым инфарктом миокарда. На 1 сутки пребывания в больнице у больного в стерильных условиях одноразовым шприцом из кубитальной вены взяли 2 мл крови, поместили в центрифужную пробирку и после 20 минут отстаивания при комнатной температуре путем центрифугирования в течении 10 минут при 1500 об/мин, отделили сыворотку крови от сгустка. К 0,1 мл сыворотки крови добавили 5 мл заранее приготовленного ацетат-цитратного буфера (хранить в холодильнике не более одного месяца) и 0,1 мл 0,1 N водного раствора риванола. Через 5 мин после перемешивания измерили оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора на фотоэлектроколориметре против контрольного раствора, приготовленного так же, как опытный, в котором вместо сыворотки крови добавлен 0,1 мл H₂O. По калибровочной кривой нашли, какой концентрации соответствует раствор с данной оптической плотностью. Исследования повторили на 3,5,7,10, 20 и 30 сутки после инфаркта. Концентрация хондроитинсульфатов в сыворотке крови больного 3. составила на 1 сутки после острого инфаркта миокарда 120% (0,12 г/л), по сравнению со здоровыми людьми, на 3 сутки - 92% (0,092 г/л), на 5 сутки - 55% (0,055 г/л), на 7 сутки - 200% (0,2 г/л), 10 сутки - 220% (0,22 г/л), 20 сутки 90% (0,09 г/л), 30 сутки - 80% (0,08%), что свидетельствовало о преобладании фазы деструкции (некробиоза) в инфарцированном сердце этого больного на 1,7 и 10 сутки и фазы репарации и формирования грануляционной соединительной ткани на 3,5,20 и 30 сутки после инфаркта. Поскольку отклонения уровня хондроитинсульфатов на 5,7,10 сутки от нормы были почти в 2 раза, эти изменения можно рассматривать как изменения высокой степени интенсивности.

Предлагаемый способ определения фазы течения инфаркта миокарда по сравнению с прототипом является более специфичным, позволяет повысить точность диагностики, значительно сократить время и упростить процесс проведения исследования, не требует дорогостоящих дефицитных реактивов и оборудования и обладает высокой воспроизводимостью.