



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62063 (13) A

(51) 7 A61B5/00, G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ НЕСТАБІЛЬНОЇ СТЕНОКАРДІЇ

1

2

(21) 2002076103

(22) 22 07 2002

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Завальська Тетяна Вікторівна, Лизогуб Віктор Григорович, Іванченко Ігор Анатолійович

(73) Завальська Тетяна Вікторівна, Лизогуб Віктор Григорович, Іванченко Ігор Анатолійович

(57) Спосіб прогнозування перебігу нестабільної стенокардії, який включає дослідження поту, який відрізняється тим, що за допомогою газорідинної хроматографії визначають процентний вміст ліноленової кислоти в ліпідах секрету шкіри, порівнюють з контролем і за рівнем відмінності отриманих результатів оцінюють ліпідні порушення

Винахід, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до терапії (кардіології), точніше до ліпідології.

Існує багато способів діагностики ліпідних порушень у хворих ішемічною хворобою серця (клінічні, біохімічні, морфологічні) [1,2].

В переліку сучасних методів діагностики основаних на оцінці морфологічних, функціональних, біохімічних та генетичних параметрів організму неінвазивні методи займають все ще порівняно скромне місце. Хоча в останні роки відбувається розширення спектра дослідження біоридин (поту, рідини слізної залози, конденсату видихаємого повітря та інші), отриманих неінвазивним шляхом, накопичення даних про концентрацію в них різноманітних компонентів та порівняння їх з кров'ю. Значення таких методів, особливо в медицині майбутнього важко переоцінити. Існує декілька значних факторів, які сприяють появі та використанню нових неінвазивних методів та об'єктів: безпека інфікування вірусом імунодефіциту людини, проведення масових профілактичних оглядів (важко примусити людину, яка вважає себе здоровою в необхідності взяття зразку крові).

Найбільш близьким за технічним рішенням до заявляемого способу є обраний нами в якості прототипу калориметричний метод [3], який визначає наступні показники в поті: лактат, сечовину, солі сечової кислоти та іони Na та K при запаленні викликаних стисненням тканин. Однак цей спосіб має суттєві недоліки: він низько інформативний, тривало виконується, малої чутливості,

незручний у використанні.

Технічний результат від використання заявляемого винаходу буде полягати в підвищенні точності діагностики, своєчасній профілактиці, прогнозу та призначенні коректної терапії у хворих на стабільну та нестабільну стенокардію, в точнішому контролі цієї терапії, що дасть можливість знизити кількість несприятливих наслідків (інфаркт міокарда, раптова коронарна смерть) та строки лікування.

Поставлена задача досягається тим, що у заявляемому способі, який заключає дослідження поту, згідно з винаходом за допомогою газорідинної хроматографії визначають процентний вміст ліноленової кислоти в ліпідах секрету шкіри, порівнюють з контролем і за рівнем відмінності отриманих результатів оцінюють ліпідні порушення. Перевага цього метода: чутливість газорідинної хроматографії, висока інформативність, що дозволяє проводити оцінку порушень ліпідного обміну, досліджуючи ліпіди секрету шкіри. До того ж переваги визначення ліпідних порушень за секретом шкіри це – атравматичність методу, безпечність (секрет шкіри – неінвазивний об'єкт, зручний у використанні), можливість перевірки ліпідних порушень в динаміці, прогнозування подальшого перебігу захворювання, постійний контроль ефективності лікування та правильності призначення ліків, контроль дієти та оцінка сезонних змін.

Запропонований метод здійснюється наступним чином: фільтри паперові (розмірами 5 см x 5 см), змочені 10-15% розчином етилового спирту,

(13) A

(11) 62063

(19) UA

накладали на шкіру передкардіальної ділянки (верхівка серця, п'яте міжребер'я по середньоключичній лінії зліва), витримували упродовж 30хв, обережно зволожуючи при висиханні. Фільтрувальний папір, просочений секретом, вміщували у пробірку з притертим корком об'ємом 15мл. Загальні ліпіди секрету шкіри екстрагують 10мл хлорформ - метанолової суміші (у співвідношенні 2:1) на протязі 30хв. Потім видаляють фільтрувальний папір, а в пробірку додають 1мл дистильованої води для поділу фаз. Нижній хлорформний шар (з екстрагованими ліпідами) відбирають за допомогою піпетки Пастера і вміщують в окрему пробірку. Отриманий таким чином екстракт загальних ліпідів концентрують випарюванням до об'єму однієї краплі під потоком газоподібного азоту при 45 °С на водяній бані. До випареного сухого осаду ліпідів шкіри додають 5мл 1% розчину сірчаної кислоти в метанолі і вміст пробірки переносять в ампулу об'ємом 10мл, запаюють і інкубують на водяній бані при 85°С упродовж 20хв. Потім цю ампулу охолоджують і проводять дворазову екстракцію метильованих ЖК ліпідів поту 5мл гексан-ефірної суміші (у співвідношенні 1:1). Для кращого поділу фаз додають 1 мл дистильованої води. Об'єднані гек-

сан-ефірні екстракти (верхній шар при поділі фаз відбирають піпеткою Пастера) концентрують випарюванням під потоком газоподібного азоту, а сухий осад метильованих ЖК розбавляють у 40мл гексан-ефірної суміші і вводять у випарювач хроматографа в кількості 5,0мл.

Газохроматографічний аналіз спектру ЖК ліпідів секрету шкіри здійснювали на газових хроматографах "Цвет-500" із полум'яно-іонізаційним детектором в ізометричному режимі при наступних умовах для визначення спектру ЖК ліпідів: використовували скляну колонку розміром 3мх3см, заповнену фазою 5% ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зернистість 0,125-0,180мм), температура колонки 190°С, температура випарювача - 250°С, витрати азоту і водню 35мл/хв, повітря - 200мл/хв, швидкість діаграми стрічки 240мл/год, чутливість шкали 10-А*-7, об'єм введеної проби 3-5мкл, тривалість аналізу 20хв. Кількісну оцінку спектру ЖК ліпідів проводили методом нормування площин, долю ЖК визначали в процентах. Похибка метода визначення $\pm 10\%$.

Результати газохроматографічного аналізу спектру жирних кислот ліпідів секрету шкіри передкардіальної ділянки приведені в таблиці.

Таблиця

Жирні кислоти (%)	Контроль n=25	СС n=52	НС (сприятливий перебіг) n=67	НС (несприятливий перебіг) n=19
С18:3 (ліноленова)	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,09	0,6 \pm 0,06	0,3 \pm 0,04
Сума ПНЖК	15,3 \pm 1,1	26,2 \pm 1,3	12,4 \pm 1,2	13,0 \pm 1,3

На базі кардіологічного відділення МКЛ №12 м. Києва запропонованим методом було обстежено 138 хворих на ішемічну хворобу серця. У всіх пацієнтів було виявлено порушення жирнокислотного спектру ліпідів секрету шкіри передкардіальної ділянки. Найінформативнішою є ліноленова кислота. У хворих на стабільну стенокардію вміст цієї кислоти недостовірно зменшується порівняно з контролем, а у хворих на нестабільну стенокардію - достовірно ($p < 0,01$). У хворих напередодні розвитку інфаркту міокарда вміст ліноленової кислоти порівняно з контролем зменшується на 80%, а у хворих зі сприятливим перебігом нестабільної стенокардії - тільки на 30%, що може слугувати прогностичним критерієм кардіальних подій у хворих на нестабільну стенокардію. Специфічність цього критерію - 72%, чутливість - 85%.

Приклад 1. Дзень Анна Абрамівна, 1950р.н. 23.03.2000р. поступила в кардіологічне відділення МКЛ №12 зі скаргами на болі стискаючого характеру за грудиною, які раніше виникали тільки при фізичному навантаженні, а протягом останнього тижня почали турбувати у стані спокою. На основі скарг, анамнезу, інструментальних (електрокардіографія, холтеровське моніторування ЕКГ) та лабораторних методів дослідження (аланінамінотрансфераза, лактатдегідрогеназа, МВ-фракція креатинфосфокінази) хворій виставлено діагноз ІХС нестабільна стенокардія з 16.03.2000р. (прогресуюча), атеросклеротичний кардіосклероз. Гіпертонічна хвороба ІІ ст. СН ІІ А ст. 24.03.2000р. хворій було проведено газохро-

матографічний аналіз жирнокислотного спектру ліпідів секрету шкіри передкардіальної ділянки. Вміст ліноленової кислоти склав 0,34%. 26.03.2000р. у хворої нестабільна стенокардія трансформувалася в дрібновогнищевий інфаркт міокарда.

Приклад 2. Щур Володимир Свиридович, 1952р.н. 04.03.2000р. поступив в кардіологічне відділення МКЛ №12 зі скаргами на болі стискаючого характеру за грудиною, які іррадіювали в ліву руку, під лопатку, виникали при ходьбі у швидкому темпі на відстані 100-500 метрів. Ці болі турбували хворого протягом 9 днів і виникли уперше. На основі скарг, анамнезу, інструментальних (електрокардіографія, холтеровське моніторування ЕКГ) та лабораторних методів дослідження (аланінамінотрансфераза, лактатдегідрогеназа, МВ-фракція креатинфосфокінази) хворому виставлено діагноз ІХС нестабільна стенокардія з 22.02.2000р. (уперше виникла ІІІ ФК), атеросклеротичний кардіосклероз, СН ІІ-ІІІ ст. 05.03.2000р. хворому було проведено газохроматографічний аналіз жирнокислотного спектру ліпідів секрету шкіри передкардіальної ділянки. Вміст ліноленової кислоти склав 0,71%. На фоні проведеної агіангіопальної терапії у даного пацієнта спостерігався сприятливий перебіг нестабільної стенокардії.

Таким чином, даний метод досить точний для оцінки порушень жирнокислотного спектру ліпідів секрету шкіри та прогнозування перебігу нестабільної стенокардії і може бути рекомендований

для впровадження в широку практику

Література

1 Афонина Г Б Куюн Л А Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ Киев, 2000, 287с (12)

2 Климов А Н , Никульчева Н Г Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения Санкт-

Петербург - 1999 - 504с

3 Taylor R, Pollack A , Bader D Анализ метаболитов в поте человека аналитические методы и возможности применения для исследования при ишемическом сжатии мягких тканей Ann Clin Biochem - 1994, 31 #1 p 18-24