**Методические рекомендации к занятию № 5**

**по дисциплине «Клиническая (био)химия»**

**Тема: Клинико-биохимические констеляции при заболеваниях сердечно-сосудистой системы**

**СОВРЕМЕННЫЕ МАРКЕРЫ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Гомоцистеин (ГЦ) - независимый фактор риска заболеваний коронарных, церебральных и периферических артерий. Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) повышает риск развития атеросклероза и тромбоза артерий независимо от традиционных факторов риска и служит прогностическим маркером летального исхода. Умеренное повышение содержания ГЦ в плазме крови связано с ранним развитием окклюзионных заболеваний сосудов, нервно-психических заболеваний, осложнений беременности, возникновения дефектов нервной трубки и других врожденных аномалий плода.

Главные факторы, определяющие содержание ГЦ в крови, - активность ферментов, обеспечивающих его метаболизм, и функциональное состояние почек, обеспечивающих выведение ГЦ из организма.



Важная роль в обмене ГЦ принадлежит витаминам В12, В6 и фолиевой кислоте. Дефицит этих витаминов может привести к гипергомоцистеинемии.



Существуют фармацевтические препараты, способствующие развитию гипергомоцистеинемии вследствие их влияния на витамины, функции почек и/или содержание гормонов. К повышению концентрации ГЦ приводит прием метотрексата, метилпреднизолона, эстрогенсодержащих контрацептивов, гиполипидемических препаратов, диуретиков при их длительном использовании.

Повышение концентрации гомоцистеина оказывает повреждающее действие как на стенку сосудов, так и на систему свертывания кро - ви, создавая условия для атеросклеротических изменений в сосудах и повышенного тромбообразования. Гипергомоцистеинемия нарушает сосудодвигательную регуляцию и антикоагуляционные свойства эндотелия, угнетает тромбомодулирующую активность, вызывает изменения в стенке сосудов, характерные для атеросклероза, способствует росту атеросклеротических бляшек. ГЦ токсически действует на эндотелий сосудов, усиливает адгезию тромбоцитов.



ГГЦ диагностируют в случае превышения уровня 15 мкмоль/л. При концентрации 15-30 мкмоль/л степень ГГЦ считают умеренной, при 30-100 мкмоль/л - средней, более 100 мкмоль/л - тяжелой.

Гипергомоцистеинемия - независимый фактор риска развития рестеноза - повторного сужения дилатированных артерий после ангиопластики у больных ИБС. У детей с синдромом Дауна концентрация ГЦ в крови значительно ниже, чем у здоровых братьев и сестер.

Неблагоприятное воздействие ГГЦ на эндотелий сосудов и стимуляция тромбообразования приводят к развитию осложнений беременности. На ранних сроках беременности ГГЦ может вызвать расстройство плацентарного кровообращения, результатом чего становятся бесплодие и невынашивание беременности. В более поздние сроки ГГЦ может стать причиной хронической фетоплацентарной недостаточности, нефропатии, преэклампсии и эклампсии, гипоксии плода, внутриутробной гипотрофии и рождения ребенка с низкой массой тела. Концентрация ГЦ коррелирует с тяжестью гестоза. ГГЦ поддается коррекции с помощью приема фолиевой кислоты и витаминов группы В. Своевременное выявление повышенного содержания ГЦ в крови беременных способствует снижению риска осложнений как у матери, так и у ребенка.

**БНП-НЕЗАВИСИМЫЙ МАРКЕР ЗАСТОЙНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Диагностика сердечной недостаточности на ранних стадиях особенно трудна, так как ее характерные симптомы (одышка, отечность голеностопных суставов, утомляемость) неспецифичны. Даже при наличии этих симптомов их часто трудно интерпретировать, особенно у пожилых пациентов. По этой причине при первичном обследовании использование только клинических критериев приводит к гипердиагностике сердечной недостаточности в 50% случаев. В настоящее время наиболее важные методы выявления сердечной недостаточности - ЭхоКГ, радионуклидная ангиография и ядерно-магнитный резонанс (ЯМР). Однако ни один из этих методов не обладает абсолютной достоверностью и воспроизводимостью. Несмотря на важность понимания патогенеза и лечения сердечной недостаточности, это заболевание остается одной из главных проблем здравоохранения. Так, общие затраты, связанные с сердечной недостаточностью, составляют, например в США, 30 млн долларов в год.

|  |
| --- |
|  |

Сердце выполняет не только функцию насоса, но и функцию эндокринной железы. К настоящему времени идентифицировано два пептида, синтезируемых миокардом в результате его напряжения и поступающих в кровоток, - ANT-предсердный натрийуретический пептид и BNP-желудочковый натрийуретический пептид. Эти пептиды - ключевые регуляторы солевого гомеостаза и экскреции воды, они важны для поддержания давления крови. BNP синтезируется в желудочках миокарда в результате вентрикулярной перегрузки, высвобождается из сердца в ответ на растяжение миокарда и повышение давления. Он служит более показательным маркером желудочковой дисфункции. Его содержание в крови повышается в прямой зависимости от степени сердечной недостаточности. С другой стороны, нормальная концентрация BNP исключает сердечную дисфункцию у пациентов с одышкой. Следовательно, содержание этого маркера в крови можно использовать для дифференциальной диагностики у симптоматических пациентов с целью правильного выбора специалиста для дальнейшего наблюдения (кардиолог) и адекватной заболеванию терапии. Европейская ассоциации кардиологов (ESC) предлагает новый алгоритм диагностики сердечной недостаточности с целью улучшения ее выявления и лечения. Правила ESC по диагностике сердечной недостаточности включают проведение ЭКГ, рентгенографии грудной клетки и исследование крови пациента на содержание BNP. BNP - важный сывороточный маркер, используемый для оценки степени тяжести, стадии сердечной недостаточности, независимый от возраста, пола и функций почек, с 2003 г. служит «золотым стандартом» для использования в клинической практике.

Клиническое значение BNP (международные исследования).

•  Идентификация пациентов с коронарной недостаточностью.

|  |
| --- |
|  |

•  Подтверждение степени выраженности коронарной недостаточности.

•  Направленный мониторинг пациентов с коронарной недостаточностью.

•  Оптимизация и мониторинг терапии.

•  Выявление групп риска.

Клиническое использование BNP.

•  Диагностика дисфункций левого желудочка или сердечной недостаточности - дифференциальная диагностика у пациентов с одышкой.

•  Оценочный прогноз дисфункций левого желудочка.

•  Оценка риска возникновения вторичного острого инфаркта миокарда (ОИМ), независимый фактор риска внезапной смерти.

•  Мониторинг терапии болезни.

•  Скрининг пациентов из групп высокого риска с бессимптомным течением левожелудочковой дисфункции (больные сахарным диабетом, пациенты с гипертонической болезнью, перенесшие ОИМ, люди старше 50 лет).

•  Дифференциальная диагностика между легочными, сердечными и другими заболеваниями при длительном их течении.

•  Прогноз течения заболевания.

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФАРКТА МИОКАРДА**

Критерии диагностики острого инфаркта миокарда представлены соответствующими клиническими симптомами, характерными ЭКГ-изменениями и повышением кардиальных протеинов в сыворотке или плазме крови.

До недавнего времени лабораторная диагностика острого инфаркта миокарда зависела, главным образом, от определения активности СК и СК-МВ, но обнаружено, что при этих исследованиях часто не выявляют малые, нетрансмуральные инфаркты (без-Q-инфаркты). Более того, диагностическая чувствительность этих маркеров значительно ниже на ранних этапах приступа, чем у миоглобина, тогда как диагностическая специфичность их сопоставима. Кроме того, определение содержания миоглобина подтверждает нормализацию кровообращения в коронарных сосудах в первые 2 ч после начала фибринолитической терапии.

По сравнению с измерением каталитической активности СК-МВ, иммунохимическое определение СК-МВ (как СК-МВ концентрации, или СК-МВ-mass) обладает значительно большей диагностической чувствительностью, особенно на ранней стадии заболевания. В противоположность измерению иммунного ингибирования названных маркеров определение концентрации не дает ложноположительных высоких значений, если в сыворотке присутствуют другие изоэнзимы (СК-ВВ) или изоформы (т.е. макро-СК). Анализ СК-МВ-активности - очень нечувствительный метод, в диапазоне приближения к 10 Е/л. По сравнению с анализом концентрации, детекция измеряемого нарастания СК-МВ задерживается. Замечено, однако, что СК-МВ образуется не только в миокарде, но и в скелетных мышцах. По этой причине данный маркер нельзя считать параметром, специфичным для миокарда.

Измеряемыми высокоспецифичными для миокарда параметрами можно определить компоненты тропонинового комплекса. Изоформы

Тропонина I, так же, как и тропонина Т, значительно отличаются по аминокислотной последовательности в сердечной и скелетных мышцах. Это дает возможность получить специфичные антитела против кардиальных изоформ тропонинов Т и I и использовать их в тест-системах.

**Таблица 1.** Сравнение результатов измерений cTnl и cTnT у больных с острым инфарктом миокарда (по данным J Mair e.a. 1996, Clinica Chimica Acta v.245 pp.19-38)



Примечания. TnI - тропонин I; TnT - тропонин T; cTnI - концентрация тропонина I; cTnT - концентрация тропонина T.

Тропонин I и Тропонин Т - компоненты сократительного аппарата, т.е. структурно связанные белки кардиомиоцитов. Тогда как растворенные в цитозоле белки (миоглобин) относительно быстро вымываются из зоны некроза, деструкция сократительного аппарата более продолжительна во времени, так что увеличение содержания тропонина определяют до 8-10 дней после острого приступа.

Определение содержания сердечных тропонинов I и Т дает возможность диагностики микронекроза миокарда, иногда возникающего в случае нестабильной стенокардии. Такие повышения концентрации тропонина имеют высокое прогностическое значение (по отношению к инфарктам и смерти), что дает возможность оценивать степень риска пациентов со стенокардией. Диагностическая оценка этих методов включает серийные исследования у пациентов с острым инфарктом миокарда и пациентов со стенокардией в сравнении с определением миоглобина, КК-МВ-mass и других лабораторных тестов.

**Таблица 2.** Диагностическая чувствительность и специфичность лабораторных тестов при инфаркте миокарда



**Таблица 3.** Временные интервалы диагностической значимости исследования изменений маркеров ОИМ



Таблицы показывают диагностическую чувствительность лабораторных методов при остром инфаркте миокарда в зависимости от длительности симптомов. Обнаружено, что диагностическая чувствительность всех параметров при ИМ зависит от длительности болевого приступа. Если боль отмечена в течение 4-6 ч, концентрация миоглобина повышается у всех пациентов с острым инфарктом миокарда, тогда как СК-МВ/mass увеличивется у 83%, а содержание тропонина - у 50% больных. Общая чувствительность для трех параметров становится 98%.

Содержание миоглобина начинает увеличиваться раньше остальных и потом возвращается к отсекающему значению на 2-й день, тогда как СК-МВ/mass нормализуется между 3-м и 4-м днем, а тропонин I - между 6-м и 8-м днем. Содержание тропонина I достигает максимума на 2-й день. Это максимальное значение в 30-50 раз превышает отсекающее. Величина отличия от отсекающего значения для тропонина I больше, чем для миоглобина (в 8-10 раз) или СК-МВ/mass (в 14-36 раз). У пациентов, которых лечили с применением чрескожной баллонной ангиопластики, выявляют более выраженное увеличение всех маркеров, чем у тех, кто получал тромболитическую терапию и консервативное лечение. У больных со стабильной стенокардией может повышаться концентрация миоглобина и СК-МВ/mass и отсутствовать изменение содержания сердечных тропонинов, что служит дифференциально-диагностическим критерием.

У пациентов с нестабильной стенокардией возможно повышение концентрации тропонина I и СК-МВ/mass, тогда как содержание миоглобина не изменяется. Миоглобин, СК-МВ/mass и тропонин I показывают высокую чувствительность (98%) в распознавании острого инфаркта миокарда, в то же время кинетика их изменений различна. Значения содержания миоглобина нормализуются на 2-й день после приступа, СК-МВ/mass - между 3-м и 4-м днем, а тропонина I - между 6-м и 8-м днем. Если набор симптомов неизвестен, то динамика этих трех параметров и согласование ее по каждому в отдельности дает возможность дать заключение о характере клинической картины.

Еще недавно многие медицинские центры в практике использовали оценку динамики ферментов СК и СК-МВ с интервалами 4-8 ч. Сейчас доступность иммунохимического определения содержания миоглобина, СК-МВ/mass и тропонина I имеет несколько преимуществ. Время, необходимое для анализа, коротко, созданы условия для определения единичного образца. Более того, исследования обеспечивают новые возможности в диагностической чувствительности и специфичности, контроле лечения, оценке риска в развитии заболевания, последующих особенностей нестабильной стенокардии. Имея в виду различия в кинетике этих маркеров инфаркта миокарда, необходимо четкое согласование времени забора крови у пациента. Стандартный подход:

•  забор крови при поступлении в медицинский центр;

•  через 2 ч после начала болевого симптома;

•  через 4 ч;

•  через 8 ч;

•  затем ежедневно в течение 8 дней для контроля лечения и определения прогноза заболевания.

|  |
| --- |
| Одна из наиболее важных функций врача-лаборанта - интерпретация патологических лабораторных результатов исследований. Часто клиницисты, назначающие серию лабораторных исследований своим пациентам, сталкиваются с огромным, приводящим в замешательство набором цифр, которые трудно оценить. Врач-лаборант должен не только объяснить патологические результаты, но и подсказать, какие еще исследования необходимо провести пациенту, чтобы подтвердить или опровергнуть диагноз (Tanker, 1987; Statlan, 1988). Врач-лаборант должен сам выявить патологические результаты и приложить силы и знания к их объяснению даже без запроса о консультации. Если необходимо объяснить некоторые патологические результаты, какие-то исследования активно повторяют или заказывают дополнительные, чтобы оценить состояние пациента. Обычно необходимо обращать внимание на результаты, которые не вписываются в общую картину, не коррелируют друг с другом. В большинстве случаев эти результаты совпадают, будучи истинно положительными (болезнь есть, и тест ее подтверждает) или истинно отрицательными (болезни нет, и тест ее исключает). Однако результаты могут быть и ложноотрицательными (болезнь есть, но тест ее исключает), и ложноположительными (болезни нет, но тест ее подтверждает). Вероятность положительного результата диагностического теста в присутствии болезни называют чувствительностью метода, а вероятность отрицательного результата в отсутствии болезни - его специфичностью.  |

Проанализируем, как можно использовать эти критерии у больных с инфарктом миокарда. Диагностическая чувствительность теста определяет вероятность положительного результата и показывает, с какой степенью уверенности можно ожидать положительного результата теста у больных:

•  диагностическая чувствительность (ДЧ) = количество больных с ИМ, имеющих положительный результат теста / количество всех больных с ИМ;

•  диагностическая специфичность (ДС) = количество пациентов без инфаркта миокарда, имеющих отрицательный результат / количество всех протестированных пациентов без инфаркта миокарда.

Для клинициста важнейшее значение имеет вопрос: как велика вероятность того, что ИМ есть на самом деле, если результат теста положительный, или с какой надежностью можно исключить поражение миокарда, если тест отрицательный. На эти вопросы можно ответить, используя предсказательную ценность положительного теста (ПЦП) и предсказательную ценность отрицательного теста (ПЦО).

•  ПЦП = количество больных с ИМ с положительным результатом теста / количество больных с ИМ с положительным результатом теста + больные без инфаркта миокарда с ложноположительным результатом теста.

•  ПЦО = количество больных без инфаркта миокарда с отрицательным результатом теста / количество всех отрицательных результатов (т.е. отрицательные + ложноотрицательные).

|  |
| --- |
|  |

**Таблица 4.** Диагностические критерии у больных ИМ для различных тестов



В настоящее время многие больницы в США активно разрабатывают нормированные пути (НП) для пациентов с различными заболеваниями. Основная цель создания НП - уменьшение длительности пребывания пациента в больнице и издержек, сопутствующих лечебно-диагностическому процессу. Обычно НП в клинической практике применяют для большого объема, высокого риска и высокой стоимости нозологий и процедур. В НП прослеживаются следующие аспекты процесса лечения пациента: консультации и оценки, тесты, лечение, пища, медикаменты (способ введения внутривенный и другой), активность (действие) или безопасность, планирование разгрузки и координация, другие дополнительные категории, основанные на определенном диагнозе или процедуре.

В нашем представлении НП - оптимальная последовательность действий по времени и выбор времени вмешательств всех участников технологического процесса производства результатов исследований с целью снижения задержки и расхода ресурсов и максимального повышения качества результатов лабораторных исследований. Другими словами, НП - способ визуализации всех частей единого технологического процесса производства анализов (от назначения исследований клиницистом, подготовки пациента до получения результатов и использования их в диагностике и лечении).

Таким образом, если предложенная индустриальная модель технологического процесса производства результатов лабораторных исследований определяет, что и как необходимо делать, то НП показывают, когда необходимо вмешаться в технологический процесс, и на каком этапе, чтобы снизить количество ошибок, расход ресурсов (моноветы, реактивы, калибраторы и т.д.) и чтобы результаты исследований максимально соответствовали реальным. Мы приводим нормированный путь проведения биохимических исследований для пациента с подозрением на инфаркт миокарда (ИМ). Следует подчеркнуть, что НП для экстренных исследований значительно отличается от НП для плановых исследований.

Общее требование для экстренных исследований - выполнение их в течение 45-60 мин после доставки материала в лабораторию, а на исследование жизненно важных параметров (например, содержание гемоглобина, гематокрит, КЩС, концентрация калия и глюкозы) отводят 3-5 мин.

 Схема показывает, как «работает» НП диагностики ИМ. После назначения исследований АСТ, АЛТ, КК, КК-МВ, тропонина Т задействуют критерии (пороги) этого этапа.

• Первый порог. Когда можно назначать эти исследования? - Такие исследования для экстренной диагностики могут быть выполнены в любое время, поэтому их не включают в последующий анализ;

• Второй порог. Сколько времени прошло после острого ангинозного приступа? - В нашем примере прошло 6 ч, значит, пороги не задействуют, а если бы после острого приступа прошло 5 сут, порог бы включился, так как в этот период ИМ определение миоглобина для диагностики заболевания не используются.

На этапе технологической операции взятия крови на исследования, несмотря на неподготовленность пациента к исследованиям, порог не включается, так как неотложные исследования проводят без подготовки, а если бы пациенту были назначены плановые биохимические исследования, то этот порог включился бы и потребовал вмешательства специалистов лаборатории для устранения отклонений от НП. Кровь на исследования у пациента с подозрением на ИМ необходимо взять в течение 10 мин после получения процедурной сестрой заявки и в течение такого же времени доставить в лабораторию. Отклонения по времени на этих этапах также анализируют и по ним вырабатывают программы устранения причин, приводящих к нарушениям. Аналогичным образом работают критерии порогов для технологических операций взятия, приема и обработки крови.

В случае получения результатов исследований, требующих немедленных действий со стороны клинициста, врач-лаборант срочно информирует его об этом. По этой причине в нашем случае при получении повышенных значений КК, КК-МВ, миоглобина врач-лаборант сообщает клиницисту о результатах (критерий не включается) и только затем приступает к написанию заключения.

|  |
| --- |
|  |

На этапе технологической операции передачи результатов исследований врач-лаборант обязан указать время поступления материала в лабораторию и время выдачи ответа, а также убедиться в том, что клиницист получил результаты. Выполнение этих порогов имеет большое значение, особенно при проведении экстренных исследований и исследований по жизненным показаниям, так как устраняет повод для разбирательства в случаях, если лаборатория сталкивается с низкой ответственностью клинициста, который в качестве своего оправдания бездействия ссылается на то, что он не был вовремя информирован о результатах исследований.

На этапе передачи результатов исследований НП не заканчивается, так как он должен обязательно включать постаналитическую часть единого технологического процесса производства анализов. Эта часть техно - логического процесса не менее важна, чем предыдущие, так как она позволяет оценить все предыдущие этапы. Администратором на этом этапе НП становится клиницист, он отвечает за интерпретацию и использование полученной лабораторной информации. Критерии НП на постаналитической части:

•  соответствуют ли результаты исследований объективному состоянию пациента;

•  отражены ли результаты исследований в истории болезни;

•  какие действия предприняты клиницистом по результатам исследований;

•  повлияли ли результаты исследований на качество оказания медицинской помощи пациенту.

Если результаты исследований не востребованы клиницистом, это становится критерием срабатывания порогов и служит материалом для анализа и выяснения причины, почему это происходит. Врач-лаборант не должен устраняться от анализа причин срабатывания порогов на постаналитической части технологического процесса, так как в противном случае это приведет к нарушению взаимодействия всех участников НП. Кроме того, НП становится законченным только в этом частном случае, а при проведении лечения пациента он повторится через какое-то время (исследования будут назначены повторно для оценки проводимого лечения, определения прогноза или диагностики возникших осложнений), и оценивать его придется уже в динамике, с учетом выявленных отклонений в предыдущем случае.

Контрольные вопросы к разделу:

1 В чем отличие миокарда от скелетных мышц по субстратам, поставляющим энергию для сокращения?

2 Какие процессы являются ведущими для получения АТФ в миокарде?

3 Какие ферменты преобладают в миокарде?

4 Какие витамины участвуют в метаболизме миокарда?

5 Принцип метода определения каталитической активности АсАТ.

6 Принцип метода определения каталитической активности ЛДГ.

7 Что является основным субстратом, окисление которого (как аэробное, так и анаэробное) приводит к получению АТФ в скелетной мышце?

8 Возможно ли получение АТФ в скелетной мышце путем окисления лактата? Объясните.

9 Судьба лактата в скелетной мышце.

10 Какие белки в скелетной мышце выполняют: а) сократительную функцию б) регуляторную функцию?

11. Какие современные лабораторные критерии ИФ?

12. Какие основные диагностические лабораторные тесты при ревматизме ?

13. Какие основные диагностические лабораторные тесты для оценки атерогенеза?