**Методические рекомендации к занятию № 6**

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

**Тема: Клинико-биохимические констеляции при заболеваниях дыхательной и нервной систем**

**1. Лабораторные исследования при заболеваниях легких**

**Изменения в крови и моче**

Основными причинами изменений состава крови при заболеваниях легких являются интоксикация и гипоксия. В начальный период заболеваний легких в крови содержится нормальное количество эритроцитов и гемоглобина. По мере усиления изменений в легочной ткани нарушается газообмен, в результате чего может развиться гиперхромная анемия (увеличение количества гемоглобина при уменьшении количества эритроцитов). При резком исхудании больного могу наблюдаться явления гипохромной анемии, которая характеризуется уменьшением количества эритроцитов и гемоглобина. Анемия появляется при злокачественной опухоли легкого на III стадии процесса.

Более часто при заболеваниях органов дыхания подвергается изменениям белая кровь. При начальных фазах инфильтративного, обострениях очагового, хронического кавернозного и диссеминированного туберкулеза, а также при кавернозной пневмонии может наблюдаться лейкоцитоз в пределах 12 – 15 х 10\*9/л. При всех остальных формах туберкулеза без сопутствующих заболеваний количество лейкоцитов редко бывает выше нормы.

В случае наличия неспецифической пневмонии, гнойных заболеваний и запущенного рака легких имеет место лейкоцитоз от 12 х 10\*9/л до 20 х 10\*9/л и более. Для свежих форм и обострения туберкулезного процесса, неспецифической пневмонии характерен нейтрофильный сдвиг влево. Появляются палочкоядерные и даже юные нейтрофильные гранулоциты. Количество эозинофильных гранулоцитов может увеличиваться у некоторых больных в период антибактериальной терапии, а также при аллергических заболеваниях. В редких случаях пневмония не сопровождается лейкоцитозом.

Тяжелые формы туберкулеза протекают с эозино- и лимфопенией. Лимфопения присуща казеозным формам бронхоаденита, казеозной пневмонии, милиарному туберкулезу. При малых и свежих формах туберкулеза наблюдается лимфоцитоз.

Для всех воспалительных заболеваний, амилоидоза и рака легких характерна повышенная СОЭ, только начальные стадии рака и туберкулеза протекают с нормальной СОЭ, но при раке СОЭ увеличивается независимо от лечения.

Изменения в моче при заболеваниях легких могут наблюдаться как в острый период, так и при длительной хронической интоксикации. В острый период воспалительных заболеваний легких возможны альбуминурия, эритроцитурия, реже цилиндрурия.

Хронические формы туберкулеза и хронические неспецифические заболевания легких осложняются амилоидозом почек. При этом в моче обнаруживают постепенно нарастающую протеинурию, а затем гипостенурию, цилиндрурию. По мере прогрессирования процесса нарушается выделительная функция почек, появляются олигурия, азотемия. Изменения в моче могут быть не замеченными при ранних стадиях амилоидоза, и тогда повышенная СОЭ трактуется ошибочно.

**Изменение биохимических показателей крови**

При заболеваниях крови биохимические исследования применяются для определения активности воспалительного процесса и изучения функциональных изменений различных органов и систем организма. Кроме того, они имеют большое значение для диагностики наследственно-дегенеративных заболеваний легких (муковисцидоз, α1-антипротеазная недостаточность, первичное иммунодефицитное состояние. После лечения нередко нелегко судить об активности остаточного процесса. Кроме лабораторных данных, необходимо сопоставлять клинико-рентгенологичекие показатели и результаты пробной терапии, а в случае необходимости проводить исследования биоптата.

Общий белок крови в норме составляет 6,5 – 8,2 г/л. При туберкулезе, гнойных процессах, сопровождающихся выделением большого количества мокроты, а также при амилоидозе, которому свойственна высокая протеинурия, общее количество белка в крови может уменьшаться. Больные туберкулезом выделяют значительно меньшее количество мокроты, чем больные абсцессом, бронхоэктатической болезнью, но она содержит в 5 – 10 раз больше белка.

Соотношение количества альбуминов и глобулинов, а также α1-, α2-, γ-глобулинов (протеинограмма) определяют методом электрофореза. Воспалительные процессы в легких (острые и хронические) протекают на фоне уменьшения количества альбуминов – до 40% (норма 55 – 65%) и увеличения глобулинов – до 60%.

При хронических неспецифических заболеваниях легких преимущественно увеличивается содержание α1-глобулинов – до 12% (норма 4,4 – 6%), а при активном туберкулезном процессе – α2-глобулинов – до 15% (норма 6 – 8%); уровень β-глобулинов (норма около 10%) резко возрастает при амилоидозе (до 25%) и хронических неспецифических заболеваниях легких. Изменения содержания γ-глобулинов в крови менее закономерно (в норме 17%).

Воспалительные реакции всегда сопровождаются снижением альбумин-глобулинового коэффициента. У здоровых лиц он равен 1,5, а у больных воспалением легких – 0,5 – 1.

С-реактивный белок появляется у большинства больных при воспалительных и особенно дистрофических заболеваниях легких. Его количество в сыворотке крови обозначается от + до ++++. Считается нормой содержание СРБ в сыворотке крови - до 0,5 мг/л.

Гаптоглобин является составной частью α2-глобулина, определение его количества в крови используется в качестве дополнительного теста для оценки активности затянувшейся пневмонии.

Серомукоиды входят в состав соединительной ткани организма. В случаях повреждения, разрушения её серомукоиды попадают в плазму крови. Самые разнообразные воспалительные процессы в легкиз (пневмонии, плеврит, туберкулез,) приводят к увеличению связанных с серомукоидом сыворотки гексоз. Наибольшее диагностическое значение имеет определение серомукоидов для выявления вялотекущих воспалительных процессов, повышение этого показателя свидетельствует об активации процесса, даже если клинические симптомы еще не проявились.

Подготовка к исследованию. Взятие крови натощак.

Материал для исследования: сыворотка крови.

Единицы измерения: единицы ОП.

Метод определения: турбидиметрический метод Хуерго.

Референтные значения: 0,13 – 0,20 ед..

Содержание сиаловых кислот в сыворотке крови в норме составляет 116 – 160 ед. При распаде белковых комплексов во время воспалительного процесса их количество увеличивается в 1,5 – 2 раза.

(!) Изменения биохимических показателей крови при заболеваниях легких стойкие и сохраняются длительное время (до 4 – 5 месяцев) после прекращения воспалительного процесса.  
Большое значение для коррекции водно-солевого обмена при заболеваниях легких имеет определение электролитного состава крови, особенно калия, натрия, кальция и хлора. Содержание ионов калия и натрия определяют с помощью пламенного фотометра, а кальция и хлора – титрованием.

Содержание хлоридов в сыворотке крови уменьшается при крупозной пневмонии, а концентрация электролитов натрия и хлора в секрете потовых желез увеличивается при муковисцидозе.

В тех случаях, когда хронические воспалительные заболевания легких осложняются амилоидозом внутренних органов, необходимо определять содержание мочевины и остаточного азота в крови. К биохимическим показателям функции печени относятся: содержание билирубина, трансаминаз (аспаргиновой, аланиновой, щелочной) в крови, а при сопутствующем сахарном диабете – содержание сахара в крови и моче.

Большое значение при заболеваниях легких имеет определение состояния гемостаза по данным коагулограммы и тромбоэластограммы. В последние годы в пульмонологических клиниках исследуют состояние сурфактантной системы легких. Интенсивно изучается диагностическая значимость определения различных компонентов калликреин-кининовой системы крови, в частности, важная роль отводится α1-протеиназному ингибитору (α1-ПИ). Снижение его уровня в сыворотке крови генетически детерминировано и передается по наследству как фактор, предрасполагающий к развитию эмфиземы легких. Повышение уровня функционально активного α1-ПИ, который является белком острой фазы заболевания, наблюдается при пневмонии, многих формах хронических неспецифических заболеваний легких, особенно гнойных, что может рассматриваться, как компенсаторная реакция.

Ошибки в использовании α1-ПИ как прогностического фактора допускаются при раздельной интерпретации результатов его количественного определения и фенотипирования, а также при определении общего количества ингибитора, в том числе инактивированного.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Обязательные исследования | Дополнительные исследования |
| Абсцесс легкого | Общий белок и белковые фракции, белки острой фазы. | Фракции липопротеинов, холестерин, сукцинатдегидрогеназа. |
| Бронхиальная астма | Общий белок и белковые фракции, белки острой фазы. | 17‑окси­кортикостероиды (в моче), 17‑кортикостероиды, цАМФ. |
| Бронхит острый | Общий белок и белковые фракции, белки острой фазы. |  |
| Бронхоэктатическая болезнь | Общий белок и белковые фракции, белки острой фазы, фибриноген. |  |
| Легочно-сердечная недостаточность | Общий белок и белковые фракции, лактатдегидрогеназа и ее изоферменты. | Молочная кислота, электролиты (K, Na, Cl) |
| Плеврит | Сиаловые кислоты, гликопротеины, осадочные пробы, общий белок и белковые фракции, белок и лактатдегидрогеназа в плев­ральной жидкости. |  |
| Пневмония | **Острая**: общий белок и белковые фракции, белки острой фазы, осадочные пробы, лактатдегидрогеназа и ее изоферменты, гликопротеины, сиаловые кис­лоты.  **Хроническая**: общий белок и белковые фракции, белки острой фазы, лактатдегидрогеназа и ее изоферменты. | 2,3‑дифосфоглицерат, фракции липопротеинов. |
| Туберкулез | Общий белок и белковые фракции, осадочные пробы, гликопротеины, сиаловые кислоты. |  |
| Эмболия легочных сосудов | Креатинкиназа и ее изофер­менты, лактатдегидрогеназа и ее изоферменты, гликопротеины. | Билирубин, гликопротеины, сиаловые кислоты, коагулограмма. |

**При легочном раке биохимические показатели крови будут содержать такую информацию:**

1. Повышенное содержание α-2-глобулина;
2. Дефицит сывороточного альбумина;
3. Превышение уровня кальция;
4. Избыточное содержание лактодегидрогеназы;
5. Возрастание кортизола.

Биоматериалы берутся из вены, через 3-5 дней проводится повторное биохимическое исследование. Подобные действия необходимы для отслеживания динамики онкомаркеров.

**Анализ на онкологические маркеры**

Опухоль продуцирует специфические белковые вещества, которые еще называют онкомаркерами или антигенами.

В соответствии с разновидностью онкомаркеров можно определить локализацию ракового процесса. В норме клетки организма угнетают продуцирование антигенов, поэтому их присутствие в составе крови указывает на наличие онкопроцесса.

Подобные исследования крови необходимо проводить многократно, чтобы отследить динамику опухолевых процессов. Подобные исследования позволяют определить скорость увеличения концентрации онкомаркеров, что поможет спрогнозировать прогрессирование опухолевого процесса.

Онкомаркеры на рак легких также сдают в утренние часы, для исследования кровь набирают из вены. Необходимо за несколько суток до исследования исключить спиртное.

Подобная диагностика отличается высокой стоимостью, а результаты может дать неточные. Показатели уровня некоторых онкомаркеров повышаются на фоне недостаточности миокарда и гепатита, печеночного цирроза и желудочной язвы, панкреатита и пр.

**Опухолевые маркеры**

Чаще всего при диагностике легочного рака применяются такие онкомаркеры:

* **РЭА** – относится к онкомаркерам универсального характера, помогает определить наличие онкопатологии у 50-90% пациентов. Это раково-эмбриональный антиген, уровень которого поднимается не только при раковых опухолях, но и при печеночном циррозе;
* **ТПА** – тканевый полипептидный антиген, является общим антигеном, продуцируемым различными образованиями;
* **NCE** или нейроспецифическая енолаза – применяется при выявлении мелкоклеточных разновидностей легочного рака;
* **SCC, CYFRA 21-1** – используется в процессе выявления плоскоклеточных форм онкологии легких либо аденокарцином.

Незначительное превышение содержания в крови антигенов может быть обусловлено менее «агрессивными» процессами, нежели рак, поэтому данный анализ необходимо сочетать и с другими диагностическими процедурами.

**Подготовка к сдаче анализа**

Анализы крови всегда сдаются натощак и только по утрам, последний раз поесть перед исследованием можно за 8-12 часов. Из напитков допускается пить лишь воду.

Примерно за неделю до анализов требуется исключить алкоголь, а за час – табакокурение. Кроме того, чтобы не снизить информативность и достоверность исследований крови, не следует идти на процедуру в состоянии стресса, нервного перенапряжения, бессонной ночи, физической перегрузки.

Также не рекомендуется проходить процедуру вскоре после массажа, физиотерапии, бани, рентгенографического исследования или какой-либо другой инструментальной диагностики.

Если лечение пациенту уже проводилось, то повторные анализы на онкомаркеры сдают в 3 месяца раз. Обычно сразу после терапии концентрация антигенов резко падает, если же подобная реакция отсутствует, то необходима смена терапевтического подхода.

**Лабораторное исследование выпотных жидкостей**

Выпотные жидкости образуются в серозных полостях. Серозные полости покрыты серозными оболочками, образованными соединительной тканью. Серозная оболочка состоит из нескольких слоев эластических и коллагеновых волокон, кровеносных и лимфатических сосудов, обильно снабжена нервными окончаниями. Поверхность серозных оболочек покрыта одним слоем мезотелия, расположенного на базальной мембране. Мезотелий имеет мезенхимальное происхождение. Кровеносные, лимфатические сосуды и серозная оболочка участвуют в процессах транссудации и реабсорбции серозных жидкостей. Серозная жидкость способствует свободному перемещению внутренних органов в необходимых для них жизненных пределах. Состав серозных жидкостей постоянно обновляется за счет фильтрации и реабсорб-ции плазмы крови и лимфы. Несмотря на это, биохимический и клеточный состав серозных жидкостей практически постоянен и меняется в малых пределах.

В здоровом организме в серозных полостях имеется небольшое количество жидкости. Увеличение количества жидкости в серозных полостях наблюдается при патологических процессах. Выпотные жидкости подразделяются на транссудаты и экссудаты. Основное отличие между различными видами выпота заключается в способе образования избытка жидкости в серозных полостях.

**Транссудаты** образуются при нарушении гидростатического и коллоидно-осмотического давления крови, лимфе, серозных полостях. Основные причины, способствующие образованию транссудата: 1) повышение венозного давления при недостаточности кровообращения, заболеваниях почек, циррозе печени. При этом образование транссудата является результатом увеличения проницаемости капилляров; 2) повышение проницаемости капиллярных сосудов, вызванное различными токсинами, повышением температуры и расстройствами питания; 3) снижение концентрации белка в сыворотке крови, что приводит к снижению коллоидно-осмотического давления, приводящему к образованию отеков и транссудатов; 4) закупорка лимфатиче-ских сосудов, приводящая к образованию хилезных транссудатов. При этом серозные оболочки не вовлечены в первичный патологический процесс.

**Экссудаты** образуются при первичном поражении и/или вовлечении сероз-ных оболочек в воспалительный процесс. Иногда выпотные жидкости имеют смешанный характер.

Для правильной постановки клинического диагноза и оценки клинической ситуации необходимо качественное проведение основных лабораторных тестов и грамотная интерпретация полученных результатов .

Получение выпотных жидкостей осуществляется при пункции серозных полостей в условиях стационара специально обученным медицинским персоналом. Выпот собирается в чистую и при необходимости стерильную посуду. Если получено большое количество выпота, в лабораторию доставляется часть выпота, но обязательно последняя порция, так как она наиболее богата клеточными элементами.

Для предотвращения свертывания выпота, что приводит к обеднению клеточными элементами, можно пользоваться антикоагулянтами (цитрат натрия, ЭДТА). Следует избегать использования в качестве антикоагулянта гепарина, так как он приводит к изменению морфологии и деструкции клеточных элементов.

При проведении лабораторного исследования выпотной жидкости решается вопрос принадлежности выпота к транссудату или экссудату. При этом оцениваются физические, химические и микроскопические свойства выпота.

При проведении биохимического исследования выпотной жидкости необходимо одновременно производить забор венозной крови для определения градиента сыворотка/выпотная жидкость для ряда биохимических показателей. Химические свойства серозных жидкостей зависят от биохимических показателей сыворотки крови. Низкомолекулярные соединения в серозных жидкостях находятся в концентрациях близких к сывороточным, концентрация же высокомолекулярных соединений ниже в выпотных жидкостях, чем в сыворотке.

В выпотных жидкостях возможно определение любого биохимического показателя, который определяется в сыворотке крови. Биохимические показатели определяют после центрифугирования выпотной жидкости. Для дифференцировки транссудатов и экссудатов имеет значение отношения биохимических показателей выпотной жидкости к таковым в сыворотке крови (см. таблицу).

Биохимические критерии дифференциации транссудатов и экссудатов

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Показатель** | **Транссудат** | **Экссудат** |
| Общий белок (выпот/сыворотка) | 5–25 г/л (менее 0,5) | Выше 30 г/л (более 0,5) |
| Альбумины/глобулины | 2,5–4,0 | 0,5–2,0 |
| ЛДГ (выпот/сыворотка) | Менее 0,6 | Более 0,6 |
| Холестерин | Менее 1,6 ммоль/л | Более 1,6 ммоль/л |
| Относительная плотность | 1,005–1,015 | Выше 1,015 |
| рН | 7,35–7,45 | Менее 7,2 |

П р и м е ч а н и е: ЛДГ – фермент лактатдегидрогеназа.

Уровень общего белка в выпотных жидкостях важен в дифференциации экссудатов и транссудатов. Самая низкая концентрация общего белка в выпоте наблюдается у пациентов с нефротическим синдромом, самая высокая – в плевральной жидкости у больных туберкулезом легких.

Концентрация холестерина также отличается в транссудатах и экссудатах. Транссудаты содержат более низкую концентрацию холестерина, чем экссудаты. В экссудатах при злокачественных новообразованиях концентрация холестерина превышает 1,6 ммоль/л.

Концентрация глюкозы в серозной жидкости совпадает с ее концентрацией в сыворотке крови. Уровень глюкозы в экссудате определяется гликолитическими свойствами микробов и лейкоцитов. Уровень глюкозы снижается в выпотных жидкостях при новообразованиях и может отражать активность опухолевого процесса. Очень низка концентрация глюкозы в экссудате является плохим прогностическим признаком.

Низкий уровень лактата в выпотной жидкости указывает на неинфекционную этиологию процесса (в норме концентрация лактата в серозной жидкости составляет 0,67–5,2 ммоль/л). При злокачественных новообразованиях в выпотной жидкости наблюдается высокая концентрация лактата. Активность фермента ЛДГ в экссудатах выше, чем в транссудатах и является важным дифференциальным признакам.

Для дифференциации транссудатов и экссудатов используют пробу Ривальта которая определяет в выпотной жидкости наличие серомукоида. Проба Ривальта положительна в экссудате и отрицательна в транссудате. В серозных жидкостях смешанного генеза проба Ривальта не всегда информативна.

Ведущую роль в дифференциации транссудата и экссудата диагностике имеет микроскопическое исследование.

**Определение кислотно-щелочного состояния (КЩС)**

Кислотно-щелочное равновесие (КЩР) — определенное соотношение активных масс водородных и гидроксильных ионов.

Концентрация ионов водорода [Н+] в клетках и биологических жидкостях является одним из важных факторов обеспечения гомеостаза, так как величина [Н+] во внеклеточной жидкости существенно влияет на многие жизненно важные свойства:

• активность ферментов;

• физико-химическое и структурное состояние мембран;

• способность гемоглобина связывать кислород;

• чувствительность рецепторов к биологически активным веществам;

• возбудимость и проводимость нервных структур и ряд других.

Отклонение ионов водорода от оптимального диапазона обусловливает нарушения метаболизма и функций клеток тканей и органов (вплоть до их гибели).

Сдвиг показателя pH в диапазоне ±0,1 обусловливает расстройства дыхания и кровообращения; в диапазоне ±0,3 — потерю сознания, нарушение гемодинамики и вентиляции легких; в диапазоне ±0,4 и более — чреват гибелью организма.

Респираторный алкалоз сопровождает такие нарушения функции легких, как гипервентиляцию, бронхопневмонию, отравление угарным газом.

Респираторный ацидоз наблюдается, когда происходит нарушение дыхательной функции и в крови задерживается углекислый газ. Причиной этого могут быть угнетение дыхательного центра, отек легких, тяжело текущие пневмонии, эмфизема легких и бронхиальная астма.

**Определение кислотно-щелочного состояния (КЩС**) стало Доступным благодаря созданию микрометода Аструпа. Используется артериальная или артериализованная кровь из прогретого пальца в количестве 0,1 мл. Эквилибрируя пробу крови с различными газовыми смесями и повторно определяя рН, по номограммам получают все основные компоненты КЩС: Рсо2, стандартный бикарбонат (В), буферные основания (ВВ) и дефицит буферных оснований (ВЕ) (Ю. Я. Агапов, 1967).

Такой комплекс всесторонне характеризует КЩС, выявляя наличие нарушений, их выраженность, характер (ацидоз или алкалоз), природу сдвигов (дыхательные или метаболические), степень компенсации основного вида нарушений.

Это прямо указывает на патогенез выявляемых изменений и определяет лечебные мероприятия, необходимые для их коррекции. Метод находит применение при повседневном обследовании пульмонологических больных, особенно тяжелых, требующих интенсивной терапии, реанимации или подвергнутых оперативному вмешательству.

Оксигемометрия — наиболее доступный метод изучения оксигенации крови в легких. В основе его лежит спектрофотометрический принцип, с помощью которого измеряются соотношения в крови восстановленного и окисленного гемоглобина, имеющих разные спектральные свойства.

Кюветная оксигемометрия предусматривает забор пробы крови, оксигемометрия с ушным датчиком обеспечивает бескровное длительное непрерывное наблюдение за изменениями насыщения крови кислородом (А. Г. Дембо, Е. М. Крепе, 1966). Кровь, протекающая через разогретую мочку уха, соответствует артериальной. При использовании ушного датчика регистрируется не абсолютная величина, а изменение насыщения. Только у здоровых при ингаляции чистого кислорода насыщение достигает 100%. У больных же это часто не происходит.

Поэтому требуется получение пробы артериальной крови, чтобы оценить абсолютную величину насыщения. Дальнейшее наблюдение может осуществляться с помощью ушного датчика. Наиболее широко принята оксигемометрическая проба с ингаляцией кислорода. Она позволяет выявить дефицит насыщения крови, а по изменению скорости возврата насыщения к исходному уровню — судить о состоянии вентиляционно-перфузионных отношений.

2. Лабораторные исследования при заболеваниях невной ткани

2,1 Демиелинизирующие заболевания нервной системы

Заболевания, одним из основных проявлений которых является разрушение миелина, относятся к наиболее актуальным проблемам клинической неврологии.

Миелин — особый вид клеточной мембраны, окружающей отростки нервных клеток, в основном аксоны, в центральной (ЦНС) и периферической нервной системе (ПНС). Основные функции миелина: питание аксона, изоляция и ускорение проведения нервного импульса, а также опорная и барьерная функции.

Наиболее распространенное заболевание из всей группы болезней миелина — рассеянный склероз. Предполагается, что в основе заболевания лежат аутоиммунные механизмы, и роль пускового фактора отводится определенным вирусам и бактериям. В последние годы считают, что основными провоцирующими агентами являются Campylobacter jejuni (обнаруживается в 1/3 случая СГБ) и цитомегаловирус (до 15 % случаев). Установлена также определенная связь СГБ с вирусом Эпштейна — Барр (около 10 % случаев).

*Иммунологические исследования.* Обнаружение в сыворотке больных во время острой стадии синдрома антител к периферическому миелину, способных фиксировать комплемент. Титр этих антител коррелирует с клиническим течением.

Особое значение имеет метод исследования олигоклональных иммуноглобулинов в ликворе. Доказано, что высокая концентрация IgG является показателем активности демиелинизирующего процесса. Важную роль играет определение иммуноглобулинового коэффициента (соотношение IgG в крови и ликворе), что отражает степень нарушения ГЭБ. В последние годы в диагностике ДЗ возрастает значение иммуноферментных исследований, позволяющих выявить ряд нейроантигенов, ассоциированных с определенной нозологической формой.

Болезнь Паркинсона (БП) — одно из наиболее часто встречающихся нейродегенеративных заболеваний пожилого и старческого возраста.

При болезни Паркинсона антитела могут вырабатываться к дофаминоцитам — клеткам синтезирующим дофамин в черной субстанции и к самому дофамину. Определение антитела к клеточным рецепторам допамина, ацетилхолина является одним из диагностических тестов болезни Паркинсона.

Изучеают активность нейрон-специфической енолазы (НСЕ) при заболеваниях, сопряженных с вовлечением в патологический процесс нервной ткани, где количественное определение белка в сыворотке крови дает ценную информацию о степени выраженности повреждения нейронов и нарушении общей целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В их числе инсульты, эпилепсия, травмы головного мозга. НСЕ может быть индикатором гибели нейронов, и определение его в крови больных паркинсонизмом может быть дополнительным диагностическим маркером.

Содержание НСЕ в сыворотке крови определяют методом иммуноферментного анализа, выполняемого с помощью специфических тест-систем, разработанных на основе соответствующих моноклональных антител.

**2,2 Лабораторная диагностика при сосудистых заболеваниях в неврологии**

**1. Инсульт, диагностика**

**Инсульт**– это заболевание, при котором нарушается снабжение участка головного мозга кровью (нарушается кровоток), следовательно этот участок головного мозга не получает кислорода и питательных веществ, что неминуемо ведет к смерти клеток головного мозга и к его необратимым повреждениям. Инсульт является неотложным медицинским состоянием, и срочное лечение является необходимым, так как чем раньше начнется лечение, тем меньше повреждений получит головной мозг.

Существуют два главных типа инсульта:

* **Ишемический инсульт**
* **Геморрагический инсульт**

Факторы риска и причины инсульта

• Артериальная гипертония – или повышенное артериальное давление. Сосуды головного мозга способны выдерживать высокое давление, однако при постоянном повышенном давлении, а также скачкообразных изменениях давления, эластичность стенок сосудов уменьшается и возможны их разрывы.

• Сердечные заболевания – в большей части сердечные аритмии. Нарушения ритма, такие как трепетание предсердий, мерцание предсердий, а также дефекты клапанов сердца и расширение камер сердца могут привести к образованию сгустков крови или тромбов которые впоследствии могут попасть вместе с кровотоком в сосуды головного мозга и вызвать их закупорку.

• Атеросклероз и повышенный уровень холестерола в крови. Холестерол это воскообразное жироподобное вещество, которое содержится в нашем организме, а также в продуктах питания. Холестерол необходим нашему организму для его нормальной работы. При повышенном содержании холестерола в организме он может накапливаться и откладываться в виде жировых бляшек (атеросклеротические бляшки) на стенках сосудов, тем самым сужая их просвет (это заболевание называется атеросклероз). Чем меньше просвет, тем меньше кровоток и тем больше вероятность закупорки сосуда.

• Сахарный диабет – сам по себе является серьёзным заболеванием, проявляется повышенным содержанием глюкозы в крови. При сахарном диабете больше всего страдают стенки кровеносных сосудов организма, становясь хрупкими и ломкими, что может привести к разрушению сосуда и как следствие к инсульту, а также в местах повреждения сосудов могут образовываться тромбы, которые закупоривают просвет сосуда. Процесс может быть ускорен при наличии атеросклероза. Также вероятность инсульта увеличивается при наличии артериальной гипертонии.

• Аневризмы сосудов головного мозга – аневризмы представляют собой мешкообразное выпячивание целого участка сосуда либо стенки сосуда. Они могут быть размером от нескольких миллиметров до 1-2 сантиметров. Аневризмы могут быть врожденными, а могут появиться в течение жизни по разным причинам, начиная от травмы и заканчивая атеросклерозом или какой-нибудь инфекцией. Стенки аневризмы значительно тоньше, чем стенки нормального сосуда, поэтому они могут не выдержать определенного давления крови, особенно при артериальной гипертонии, следствием может стать разрыв стенки аневризмы и геморрагический инсульт.

• Ожирение и переедание – при увеличенной массе тела и употребление большого количества пищи есть риск постоянного увеличения уровня холестерола в крови, что может привести к развитию жировых бляшек на стенках сосудов и как следствие более вероятную их закупорку.

• Курение и злоупотребление алкоголем, а также употребление наркотических веществ (кокаин, амфетамин) – основным фактором развития инсульта, является разрушительное воздействие на целостность сосудов, а также на артериальное давление, которое обычно повышается ввиду воздействия данных веществ.

• Длительное употребление гормональных противозачаточных средств – гормоны, содержащиеся в данных препаратах, способствуют образованию тромбов в крови, которые могут попасть в сосуды головного мозга и закупорить их (чаще встречается у курящих женщин и в возрасте от 35 лет).

• Нарушение свертываемости крови – благодаря различным факторам кровь может становиться более «густой» либо более «жидкой», что может повлиять на развитие инсульта. Слишком «густая» кровь может образовывать сгустки, которые могут закупорить просвет сосуда. Слишком «жидкая» кровь может стать причиной кровотечения.

**Диагностика инсульта**

Постановка правильного диагноза и обнаружение точного места возникновения инсульта, а также данные объема поврежденных тканей позволяют правильно выбрать тактику лечения, а также избежать более тяжелых последствий. Помимо опроса и осмотра пациента необходимы специальные обследования, как головного мозга, так и сердца и сосудов.

**Биохимический анализ крови** – данный анализ необходим для определения таких основных показателей:

1. Глюкоза крови – необходима для установления точного диагноза, так как очень большое или очень маленькое содержание глюкозы в крови может провоцировать развитие симптомов аналогичных инсульту. А также для диагностирования сахарного диабета.

2, Липиды крови – данный анализ необходим для определения содержания холестерола и липопротеидов высокой плотности, которые могут стать одной из причин развития инсульта.

3. Коагулограмма – анализ крови, определяющий скорость с которой кровь сгущается. Данный анализ проводится для определения нарушений, которые могут послужить причиной кровотечения или тромбоза. Также данный анализ проводится для контроля дозы препаратов разжижающих кровь.

**2, Определение антифосфолипидного синдрома (АФС) в неврологической практике**

Для врача-невролога также очень важным является ранняя диагностика АФС. Поражение нервной системы относится к наиболее тяжелым (потенциально смертельным) проявлениям АФС и включает транзиторные ишемические атаки (ТИА), ишемический инсульт, острую ишемическую энцефалопатию, эписиндром, мигрень, хорею, поперечный миелит, нейросенсорную тугоухость и другие, неврологические и психиатрические симптомы. Ведущей причиной поражения центральной нервной системы является ишемия мозга вследствие тромбоза мозговых артерий, однако выделяют ряд неврологических и нейропсихических проявлений, обусловленных другими механизмами.

**!!!** **Тромбоз внутримозговых артерий, приводящих к инсульту и транзиторным ишемическим атакам, - наиболее частая локализация артериального тромбоза при АФС.**

Иммунологическая диагностика АФС основана на определении волчаночного антикоагулянта с помощью функциональных тестов и антител к фосфолипидам (АФЛ), выявляемых иммуноферментным методом: определение антител к фосфолипидам, обнаружение волчаночного антикоагулянта.

**2. Алгоритм лабораторной диагностики больных после инсульта и с диагностированными другими сосудистыми поражениями головного мозга включает**: включает в себя прежде всего определение гомоцистеина как контролируемого фактора риска развития сердечно-сосудистых и дегенеративных осложнений в головном мозге.

Гомоцистеин – аминокислота, промежуточный продукт,образующийся в процессе метаболизма аминокислоты «метионин», связанного с обменом серы – «минерала красоты егенеративных осложнений в головном мозге.

При нарушении метаболизма гомоцистеина вследствие генетических и функциональных дефектов ферментов, участвующих в метаболических реакциях, при дефиците необходимых витаминов гомоцистеин накапливается внутри клеток в повышенных количествах и поступает во внеклеточное пространство, а затем в плазму. повышенные концентрации гомоцистеина являются цитотоксичными. Гомоцистеин может повреждать клетки стенки сосудов, делая их поверхность рыхлой. на поврежденную поверхность осаждаются холестерин и кальций, образуя атеросклеротическую бляшку.

Повышенный уровень гомоцистеина усиливает тромбообразование. Повышение уровня гомоцистеина на 5 мкмоль/л приводит к увеличению риска атеросклеротического поражения сосудов на 80% у женщин и на 60% у мужчин. У людей с повышенным уровнем гомоцистеина повышается риск возникновения болезни Альцгеймера и старческого слабоумия. При сочетании ГГЦ и сахарного диабета чаще возникают сосудистые осложнения – диабетическая ангиопатия, нефропатия, ретинопатия и др.

При обнаружении повышенного содержания гомоцистеина рекомендуется исследовать параллельно концентрацию креатинина (для исключения нефропатии), ТТГ, фолиевой кислоты, витамина В12 для установления возможной причины ГГЦ и проведения адекватного лечения. Повышенный уровень гомоцистеина помогает заподозрить, так называемые, тихие (клинически бессимптомные) церебральные инфаркты, которые визуализируются у 20% клинически здоровых лиц пожилого возраста, и эта цифра возрастает до 40%, если имеются сосудистые факторы риска.

Для исключения других курабельных (контролируемых) факторов, приводящих к деменции, необходимо проведение следующих лабораторных тестов: 1 – развернутый анализ крови, в том числе определение уровня гемоглобина и количества эритроцитов (макроцитоз - при алкоголизме, дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты; полицитемия или анемия – при поражении костного мозга или кровопотере) и определение СОЭ (изменяется при артритах, злокачественных новообразованиях); 2 – исследование уровня электролитов крови (снижение уровня натрия и повышение уровня кальция может возникнуть при использовании тиазидов и недостатке оснований), 3 – исследование сахара крови, 4 – исследование креатинина крови, 5 – исследование печеночных ферментов; 6 – оценка функции щитовидной железы (ТТГ, Т3 свободный, Т4 свободный) особенно пациентов старше 80 лет, 7 - определение уровня витаминов В1 и В12, фолатов в сыворотке крови и 8 – серологические тесты на сифилис (для исключения нейросифилиса).

3,3 Биохимическое исследование спинномозговой жидкости (ликвора)

**Определение количества белка**

В норме в спинномозговой жидкости содержится 0,1-0,3 г/л белка, главным образом альбумина. При нейроинфекциях и других патологических процессах количество белка при повышении проницаемости гематоликворного барьера увеличивается за счёт попадания его из плазмы крови. При вирусных нейроинфекциях содержание белка может достигать 0,6-1,5 г/л, при бактериальных - 3,0-6,0 г/л, а в поздние сроки - до 16-20 г/л. Изменяется состав белков. При бактериальных менингитах в спинномозговой жидкости появляются глобулины и даже фибриноген. При туберкулёзном менингите после отстаивания спинномозговой жидкости в холодильнике в течение суток в ней появляется сеточка тонких нитей фибрина, а при пневмококковом менингите образуется плотный сгусток фибрина.

Для диагностики существенное значение имеет соотношение количества клеточных элементов и белка. При вирусных менингитах, в ранние сроки бактериальных менингитов наблюдают резкое увеличение количества клеток при нормальном содержании белка - клеточно-белковая диссоциация. При вирусных энцефалитах, опухолях, субарахноидальном кровоизлияни и возможно значительное повышение концентрации белка при нормальном цитозе или незначительном плеоцитозе - белково-клеточная диссоциация.

Концентрация белка в спинномозговой жидкосте увеличивается при нарушении ГЭБ, замедленной реабсорбции или повышенном локальном синтезе иммуноглобулинов (lg)- Нарушение ГЭБ может происходить за счет воспаления, ишемии, травмы или опухолевой неоваскуляризации. Нормальная концентрация белка в поясничной цистерне не превышает 0,45 г/л и является наивысшей по сравнению с таковой в других отделах подпаутинного пространства. Содержание белка в спинномозговой жидкосте возрастает пропорционально отдалению от места его синтеза и составляет в желудочках мозга - до 0, 1 г г/л, в базальной цистерне мозга до 0,3 г/л, в поясничной цистерне - до 0,45 г/л.

Значительное повышение содержания белка характерно для синдрома Гийена-Барре (с 3-й недели заболевания) и ХВДП. Особенно большая концентрация белка типична для опухолей спинного мозга. Опухоли нижних отделов позвоночного канала нередко сопровождаются ликворным синдромом Фреллиха Нонне: спинномозговая жидкость ксантохромна, по вытекании свертывается в пробирке, а содержание белка в ней увеличено в 10-20 раз.

Для качественного и количественного анализа белков спинномозговой жидкости используют электрофорез и иммуноэлектрофорез. В норме около 70% составляет альбумин и около 12% - у - глобулины. Белки в спинномозговой жидкосте попадают из плазмы крови путем селективного транспорта или же синтезируются в самом подпаутинном пространстве. Поэтому повышение концентрации белка в жидкости может возникать как в результате общего нарушения иммунологического статуса в организме, так и в результате усиленного локального синтеза. Повышение концентрации у-глобулинов (гипергаммаглобулинрахия) при нормальном содержании общего белка характерно прежде всего для рассеянного склероза. Если выявляется повышение иммуноглобулинов в спинномозговой жидкосте, то обязательно должен быть проверен их уровень и в сыворотке крови. Повышение Ig может наблюдаться и при нормальном содержании общего белка в жидкости. Так, повышение IgG обнаруживается при рассеянном склерозе и острой полирадикулоневропатии, а иногда и при внутричерепных опухолях и различных воспалительных заболеваниях ЦНС, включая энцефалиты, менингиты, подострый склерозирующий панэнцефалит и др.

Поликлональные Ig при электрофорезе формируют единую диффузную полосу. Моноклональные Ig формируют отдельные четкие полосы в области осаждения у-глобулинов. Поскольку считается, что каждый клон В-лимфоцитов продуцирует специфичный Ig, то группа четких полосок (олигоклональные полосы), возникающих при электрофорезе, отражает наличие в спинномозговой жидкосте олигоклональных Ig, синтезированных определенными клонами лимфоцитов. Факт синтеза Ig именно в пределах ЦНС подтверждается отсутствием олигоклональных полос при электрофорезе сыворотки крови. Обнаружение олигоклональных полос весьма существенно для диагностики рассеянного склероза, так как у 70% больных с клинически достоверным диагнозом рассеянного склероза выявляются олигоклональные полосы при электрофорезе спинномозговой жидкости.

**Определение количества глюкозы**

Гематоликворный барьер полупроницаем для глюкозы, поэтому её содержание в спинномозговой жидкости составляет в среднем 50% содержания в крови и находится в пределах 2,2-3,3 ммоль/л. Вследствие повышения проницаемости гематоликворного барьера при асептических воспалительных процессах количество глюкозы увеличивается до 3,5-5,0 ммоль/л, а при вирусных серозных менингитах и энцефалитах остаётся в пределах 2,5-4,5 ммоль/л. При бактериальных менингитах в первые сутки уровень глюкозы в пределах нормы или повышен. В дальнейшем за счёт потребления глюкозы микробной флорой и нейтрофилами уровень глюкозы неуклонно снижается вплоть до полного отсутствия, что свидетельствует о давности патологического процесса. Исследование уровня глюкозы имеет значение для оценки эффективности лечения бактериальных менингитов. При эффективной антибактериальной терапии через 2-3 сут уровень глюкозы нормализуется, при отсутствии эффекта - остаётся сниженным или понижается ещё больше.

Из дополнительных методов исследования, которые в настоящее время внедряют в практику как дифференциально-диагностические экспресс-тесты, рекомендуют определение **уровня лактата и рН спинномозговой жидкости**. В норме содержание лактата составляет 1,2-2,2 ммоль/л, при бактериальных менингитах его уровень повышается в 3-10 раз и более. В норме спинномозговая жидкость имеет слабощелочную реакцию, рН 7,35-7,40, при бактериальных менингитах уровень рН снижается до 7,0-7,1.

**Концентрация глюкозы** уменьшается по мере циркуляции спинномозговой жидкости от желудочков мозга до поясничной цистерны. В норме соотношение между концентрацией глюкозы в жидкости поясничной цистерны и в плазме крови составляет не менее 0,6. Следует, однако, помнить, что отношение концентрации глюкозы в спинномозговой жидкости к концентрации в плазме может на некоторое время (примерно на 2 ч) снижаться после еды. При очень высоком содержании глюкозы в крови (свыше 25 ммоль/л) происходит полное насыщение мембранных переносчиков глюкозы, и поэтому ее относительная концентрация в жидкости может быть ниже теоретически ожидаемой.

Нормальный уровень глюкозы в спинномозговой жидкосте при повышенном уровне ее в крови может свидетельствовать о повышенной утилизации глюкозы в подпаутинном пространстве. Низкое содержание глюкозы в спинномозговой жидкосте может наблюдаться при гипогликемии, однако коэффициент спинномозговая жидкость/плазма остается неизменным. Значительно чаще гипогликорахия, т. е. низкое содержание глюкозы в подоболочечном пространстве, возникает вследствие нарушения активного мембранного транспорта, что сопровождается снижением коэффициента спинномозговая жидкость/плазма. Это наблюдается при многих воспалительных процессах в оболочках мозга. Так, к низкому уровню глюкозы приводят острый бактериальный, туберкулезный, грибковый и карциноматозный менингиты. Менее выраженное уменьшение концентрации глюкозы часто отмечается при саркоидозе мозговых оболочек, паразитарных инфекциях (цистицеркоз и трихинеллез) и менингите, вызванном химическими факторами. При вирусных менингитах (паротитный, герпетический, лимфоцитарный хориоменингит) уровень глюкозы снижается незначительно и чаще остается нормальным. Субарахноидальное кровоизлияние также вызывает гипогликорахию, механизм которой остается недостаточно ясным. Снижение концентрации глюкозы в спинномозговой жидкосте может сохраняться в течение 2-3 нед после нормализации цитоза при острых менингитах.