

Изобретение относится к области медицины, а именно к способам медицинского обследования и может быть использовано для диагностики гистотоксической тканевой гипоксии в организме человека при неотложных состояниях в хирургии, гинекологии, терапии и других клинических дисциплинах, а также при проведении экспертизы в судебной медицине.

Известны способы диагностики гипоксии у новорожденных на основе лабораторных данных, когда диагностическими признаками выступают тяжелый метаболический ацидоз, резкое снижение гематокрита и гипоксемия [Шварц Дж., Ахман П.А., Дьюкс Ф.Д., Лаззара А., Бренн А. В. Дж., М. Пеллока, Э.К. Майера, Москва, "Медицина", 1988 г., с. 59]. Недостатком этих способов диагностики гипоксии является их методическая сложность и трудоемкость проведения лабораторных анализов.

Известен способ диагностики тканевой гипоксии в организме взрослого человека [Маркин А. С., Маневич А. А., Сировский Э. Б. Нарушения осмотического состояния крови и их коррекция/Методические рекомендации. – М., 1982] путем забора крови и определения ее биохимических компонентов, которые наиболее выражено реагируют на изменение ионно-осмотического гомеостаза организма, имеющее место при гипоксии, таких как концентрация ионов натрия, содержание мочевины и глюкозы. Полученные показатели концентрации перечисленных метаболитов крови подставляют в эмпирически выведенную формулу осмолярности и по величине показателя осмолярности дают оценку степени тяжести гипоксии.

К недостаткам приведенного способа диагностики гипоксического состояния организма относятся трудоемкость при достижении результата, так как необходимы как минимум три биохимических анализа, которые взаимодополняют друг друга, будучи подставлены в эмпирически выведенную формулу, что не может обеспечить достаточной точности и требует для своего осуществления специально подготовленного старшего медицинского персонала.

В качестве прототипа предлагаемого нами изобретения выбран способ диагностики гистотоксической гипоксии при неотложных состояниях у человека, предложенный Е. П. Юрищевым в его докторской диссертации [Юрищев Е. П. Нейроэндокринная система, водно-солевой обмен и проницаемость гемато-энцефалического барьера в этиопатогенез отека-набухания головного мозга при черепно-мозговой травме: Автореф. докт. дисс. - Москва. - 1982 г], включающий забор венозной и артериальной крови, ее центрифугирование и последующее исследование эритроцитарной массы для определения объемного процентного содержания красных форменных элементов по отношению ко всему объему крови, т. е. гематокритов венозной и артериальной крови, полученные значения которых подставляют в эмпирическую формулу, определяющую величину и направление фильтрации жидкости, на основе чего диагностируют отек-набухание ткани головного мозга, возникающий при гистотоксической гипоксии:

$$\Phi = \frac{\text{Гем А} \cdot 100}{\text{Гем В}} - 100, \quad (1)$$

где Φ - величина фильтрации жидкости, Гем А - величина гематокрита артериальной крови, Гем В - величина гематокрита венозной крови.

Способ-прототип осуществляется следующим образом.

Проводят забор венозной и артериальной крови из сонной артерии и яремной вены с помощью капилляра-гематокрита, затем центрифугируют их в специальной микроцентрифуге в течение 2 мин при 16000 об/мин, получают взвесь эритроцитов (эритроцитарную массу), отделенную от плазмы крови, сохраняющей присущий ей желтоватый цвет, и по шкале градуированного капилляра-гематокрита определяют объемное процентное содержание окрашенной эритроцитарной массы по отношению ко всему объему крови, затем полученные значения подставляют в формулу (1) и по величине Φ (величина фильтрации жидкости) оценивают степень выраженности отека-набухания головного мозга, имеющего место при гистотоксической гипоксии, развивающейся при таком виде неотложных состояний у человека, как черепно-мозговая травма.

Признаками, совпадающими с существенными признаками предлагаемого способа диагностики гистотоксической гипоксии, являются забор крови, ее центрифугирование и последующее исследование взвеси эритроцитов.

Причинами, препятствующими достижению необходимого для клиницистов технического результата (повышение точности и информативности диагностики тканевой гипоксии в организме человека), являются низкая точность способа-прототипа, т. к. величина гематокрита зависит от скорости оседания эритроцитов при центрифугировании, а, следовательно, от вязкости крови, определяемой количеством коллоидных компонентов - белков, которые присутствуют в плазме артериальной и венозной крови в различной концентрации в зависимости от стадии развития травматической болезни; необходимость участия хирурга для заполнения капилляра-гематокрита артериальной кровью; возможность диагностировать отек-набухание только ткани головного мозга, т. к. доступ к артериям и венам других внутренних органов осложнен необходимостью вскрытия грудной или брюшной полости.

В основу предлагаемого изобретения положена задача усовершенствования способа диагностики гистотоксической гипоксии в организме человека путем получения взвеси эритроцитов в изотоническом растворе хлористого натрия при его постоянной ионной силе, определения суммарной концентрации гемоглобина в данной эритроцитарной массе венозной цитратной крови, полученной за счет отмывания эритроцитов от сопутствующих белков плазмы и форменных элементов крови - лейкоцитов 0,15 М раствором хлористого натрия в стандартных условиях 15-минутного центрифугирования при 1500 об/мин.

Поставленная задача решается таким образом, что в способе диагностики гистотоксической гипоксии при неотложных состояниях у человека содержатся следующие последовательные технологические этапы: забор крови, ее центрифугирование и последующее исследование эритроцитарной массы, где определяют суммарную концентрацию гемоглобина после отмывания ее из венозной цитратной крови 0,15 М раствором хлористого натрия в стандартных условиях центрифугирования; при этом, если регистрируют величину концентрации гемоглобина в пределах 230-310 г/л для мужчин, 200-300 г/л для женщин, диагностируют физиологическую норму; если регистрируют величину концентрации гемоглобина 310-420 для мужчин, 300-

400 г/л для женщин, определяют осмотическое набухание эритроцитов; если регистрируют предлагаемый тест в пределах 160-300 г/л для мужчин, 140-280 г/л для женщин, диагностируют потерю жидкости в сосудистом русле, что соответствует осмотическому эффекту сморщивания эритроцитов. Наибольшую информативность способа можно достигнуть при повторении данного анализа крови в процессе госпитализации больного, так как эритроциты адекватно реагируют на изменение осмотического гомеостаза, что отражается на плотности получаемой взвеси в стандартных условиях центрифугирования в солевом растворе хлористого натрия, имеющего постоянную ионную силу - (0,15 М.).

Между совокупностью существенных признаков заявляемого способа и его техническим результатом (повышение точности, расширение диапазона применимости и технологическое упрощение способа диагностики неотложных состояний у человека) существует следующая причинно-следственная связь: определение концентрации гемоглобина во взвеси эритроцитов цитратной венозной крови после отмывания их от белков плазмы и примеси форменных элементов - лейкоцитов с помощью 0,15 М раствора хлористого натрия в стандартных условиях центрифугирования позволяет значительно повысить точность и информативность диагностики, так как в основу способа положен прием фотоэлектроколориметрирования растворов метгемоглобина, полученных из эритроцитарной массы различных больных путем окисления исходного окси- и восстановленного гемоглобина эритроцитов ацетонциангидрином, и использования прибора ФЭК - 4М промышленного производства, откалиброванного по эталонным растворам метгемоглобина (фирма РЕАНАЛ, Венгрия), применение только одной порции венозной цитратной крови, взятой из локтевой вены во время проведения лечебных манипуляций средним медицинским персоналом, позволяет не прибегать к помощи хирурга, что значительно упрощает технологические требования к осуществлению предлагаемого нами способа диагностики неотложных состояний у человека.

Способ осуществляют следующим образом.

Периферическую кровь в количестве 2,5 мл берут из локтевой вены и смешивают с 0,5 мл 5%-ного раствора цитрата натрия. Смесь центрифугируют 15 мин при 1500 об/мин, после чего отсасывают плазму со слоем лейкоцитов. Осадок эритроцитов промывают 0,15 М раствором хлористого натрия, для чего пробирку заполняют указанным раствором соли, осторожно перемешивают и вновь центрифугируют при 1500 об/мин, надосадочную жидкость удаляют. Из осадка эритроцитов отбирают 0,02 мл и смешивают с 10,0 мл трансформирующего раствора, который готовят следующим образом. В мерную колбу на 1 л, заполненную на половину дистиллированной водой, последовательно вносят 0,94 г ацетонциангидрина, 2,4 натрия двууглекислого и 0,4 г калия железосинеродистого и перемешивают. Полученный раствор доводят дистиллированной водой до 1 л. Трансформирующий раствор может храниться в химической посуде из темного стекла в течение нескольких месяцев.

Через 10 мин после получения из взвеси эритроцитов гемоглобинцианида измеряют экстинкцию полученного раствора при длине волны 560 нм против "холостой" пробы (трансформирующий раствор или дистиллированная вода). Для расчета количества гемоглобина в опытных пробах используют калибровочную кривую, построенную с помощью стандартного раствора гемоглобинцианида фирмы РЕАНАЛ (Венгрия) либо другого стандарта.

Калибровочная кривая приведена на фиг. 1 и построена по табл. 1 на основе данных фотоэлектроколориметра ФЭК-4М.

Работая с этим прибором, график калибровочной кривой обновляли не реже 1 раза в месяц.

Оценка полученных результатов.

Поскольку эритроциты остро реагируют на изменение ионноосмотического гомеостаза организма набуханием или "сморщиванием", то это приводит к изменению скорости их оседания в стандартных условиях центрифугирования, а, следовательно, и концентрации гемоглобина в опытных центрифугатах. Следствием колебания плотности взвеси эритроцитов у различных больных является изменение эффекта скорости их оседания, плотности полученной взвеси и, естественно, суммарного количества гемоглобина в полученном центрифугате. Нами установлена физиологическая норма для мужчин 270 ± 38 г/л, для женщин 255 ± 52 г/л гемоглобина в результате обследования 116 доноров различного пола и возраста (табл. 2) Если выразить соотношение крайних значений концентрации гемоглобина у доноров к среднеарифметическому значению измеряемой величины для группы наблюдения в процентах, то полученный нами доверительный интервал был в пределах $100 \pm 22\%$. Этот показатель мы назвали осмотическим индексом эритроцитов, который в таком представлении впервые предлагается для клинической практики. Возрастание признака свыше 122% свидетельствует о набухании эритроцитов, а падение ниже 78% можно рассматривать как эффект "сморщивания" данных форменных элементов крови, который также не определялся клинической практике, где обычно для этих целей использовались мазки крови после соответствующей окраски для дальнейшей микроскопии. Осмотический индекс эритроцитов (ОИЭ) - это интегрирующий признак в отличие от данных микроскопии, где уделяется внимание вариабельности отдельных форм эритроцитов с построением при необходимости их гистограмм, отражающих колебание процентного содержания отдельных форм эритроцитов в исследуемых образцах крови.

Таким образом, предлагаемый способ диагностики гипоксического состояния организма человека при неотложных состояниях в клинической практике может быть реализован в виде новой лабораторной пробы регистрации осмотического индекса эритроцитов (РОИЭ).

Осмотический индекс $100 \pm 22\%$ соответствует доверительному интервалу колебаний физиологической нормы описываемого параметра крови; превышение данного теста в пределах 122-180% соответствует набуханию эритроцитов, а снижение рассматриваемого показателя в пределах 50-78% может быть охарактеризовано как состояние потери жидкости данными форменными элементами крови, в результате чего наступает их сморщивание. Этим способом можно осуществлять оценку степени отека или дегидратации тканей организма при неотложных состояниях и выбирать медикаментозные средства для коррекции.

Пример 1. Больной Р., 21 года, И. Б. №8668, доставлен в бессознательном состоянии в нейрохирургическое отделение Республиканской клинической больницы им. Н. А. Семашко с места

происшествия.

При обследовании установлен диагноз: закрытая черепно-мозговая травма, ушиб головного мозга тяжелой степени, субарахноидальное кровоизлияние, линейный перелом свода черепа в теменной области, алкогольное опьянение тяжелой степени (4,2 промилле в моче). Объективная неврологическая симптоматика ушиба головного мозга: парез VII и XII пар черепно-мозговых нервов, оральный автоматизм, низкие сухожильные рефлексы, менингеальный синдром. Эхо-электроэнцефалограмма не выявила смещения срединных структур головного мозга, перелом свода черепа подтвержден рентгенологически. Общий анализ крови был в пределах нормы, спинномозговая жидкость содержала свежие эритроциты в большом количестве.

Проводилась дегидратационная, гемостатическая, седативная, стимулирующая терапия. Больной Р. выписан на 31 день госпитализации в удовлетворительном состоянии. Результат пробы РОИЭ, определенные нами по вышеописанному способу, приведены на фиг. 2 (кривая 1). Максимально зарегистрированный результат отмечен нами через 10 ч после получения травмы и составлял 452 г/л гемоглобина, а рассчитанный на основе этой величины осмотический индекс равнялся 167%, что свидетельствовало о значительном набухании эритроцитов. В процессе лечения удалось снизить и затем нормализовать результаты пробы РОИЭ. Динамика кривой 1 на фиг. 2 соответствовала клинической картине посттравматического отека головного мозга, а этому состоянию соответствовало значение концентрации гемоглобина во взвеси порядка максимального, а значение осмотического индекса достигло 167%. Данному больному была назначена дегидратационная терапия и, как следует из динамики кривой 1 на фиг. 2, врачу удалось нормализовать состояние больного. К моменту выписки значение осмотического индекса не превышало верхней границы нормы и было равно 122,2%.

Пример 2. Больной Ч., 36 лет, И. Б. №16066, поступил в нейрохирургическое отделение Республиканской клинической больницы им. Н. А. Семашко с подозрением на "объемный процесс" в головном мозге. Страдал заболеванием в течение 5 месяцев, возникли жалобы на нарастающие головные боли, ухудшение зрения, нарушение речи. Объективная неврологическая симптоматика свидетельствовала о наличии опухоли (менингиома) левой лобно-теменно-височной области с переходом на основание мозга. Память и активное внимание были снижены, отмечались моторная и амнестическая афазия, парез VII и XII правый черепно-мозговых нервов, легкая атаксия, неуверенная походка, положительный симптом Брунса, на рентгенограмме - расширение диплоэтических сосудов. Окулист отметил застойные диски зрительных нервов. При каротидной ангиографии обнаружено смещение передней мозговой артерии на 1 см вправо, средней мозговой артерии кпереди и вверх, дисциркуляторные расстройства гемодинамики. 29 октября 1982 г. была произведена операция: удаление опухоли размером 5 x 6 x 4 см в лобно-теменно-височной области.

Неврологический статус после операции к моменту выписки: элементы амнестической афазии и легкий правосторонний гемипарез. Анализы крови и спинномозговой жидкости - в пределах нормы. Наши анализы пробы РОИЭ приведены на фиг. 2 (кривая 2). Было проведено одно исходное определение концентрации взвеси эритроцитов до оперативного вмешательства, которая была равна 290 г/л. В послеоперационном периоде осуществлен трехкратный контроль этого показателя (280, 220, 290 г/л) и к моменту выписки он был равен 300 г/л. Все указанные цифры укладываются в доверительный интервал, установленный нами экспериментально для мужчин-доноров (230-310 г/л).

Пример 3. Больная Н., 41 г., И. Б. №13886, поступила в проктологическое отделение Республиканской клинической больницы им. Н. А. Семашко 10 ноября 1982 г. с диагнозом: рак сигмовидной кишки IV-ой клинической группы с явлениями частичной кишечной непроходимости. Больна с 1981 г. Заболевание выявлено при операции удаления фибромиомы. В январе 1982 г. ей была наложена сигмостома, а в мазках слизи из сигмовидной кишки найдены были атипические полиморфные клетки. Проведена была паллиативная лучевая терапия. При следующем поступлении в данную клинику 10 апреля 1982 г. состояние больной было тяжелое. Рентгенологически была выявлена тонкокишечная непроходимость. 15 ноября 1982 г. больной была произведена операция лапаротомии с наложением энтеростомы. В брюшной полости обнаружены были обильные канцероматозные высыпания, в правой подвздошной области - спаянный конгломерат тонкого кишечника, слепой кишки и сигмовидной кишки, асцит в количестве 2 л жидкости в брюшной полости. Послеоперационный период протекал с образованием пролежней. В процессе послеоперационного лечения были трансфузированы одногруппная кровь и кровезаменители (плазма, гемодез, раствор альбумина, раствор глюкозы, 0,9% раствор хлористого натрия) в общем количестве 6,5 л. 5 ноября 1982 г. была констатирована смерть на фоне развития общей кахексии. Результаты наших анализов пробы РОИЭ приведены на фиг. 2 (кривая 3). Динамика приведенных цифр отражает их резкие колебания. Знаком "*" отмечено наибольшее зарегистрированное снижение концентрации гемоглобина в центрифугате эритроцитов, значительно выходящее за пределы нижней границы нормы. Осмотический индекс упал до 64%. Эти данные можно оценивать как результат сморщивания эритроцитов в связи с потерей жидкости в сосудистом русле за счет обратного всасывания воды в толстом кишечнике и образования асцита.

До оперативного вмешательства концентрация гемоглобина во взвеси эритроцитов у данной больной была 210 г/л. Состояние ее было крайне тяжелым и только на 6 день после операции нам была предоставлена возможность повторить анализ пробы РОИЭ. Результат был равен 160 г/л. На графике эта точка отмечена знаком "*". Гемотрансфузионная терапия дала повышение показателя до 300 г/л, последнее исследование на 18 сутки госпитализации дало результат 270 г/л гемоглобина. Столь резкие колебания свидетельствовали о снижении осмотической резистентности эритроцитов; в последующем больная на фоне прогрессирующей кахексии умерла на 7 день после последнего сделанного нами анализа.

Таким образом, предлагаемый нами способ диагностики гистотоксической гипоксии при неотложных состояниях у человека (лабораторная проба РОИЭ) является удобным биохимическим технологическим приемом, позволяющим с высокой степенью точности проводить мониторинг и экспертную оценку неотложных состояний (отек головного мозга, развитие опухолей и др.), объективизировать контроль эффективности гемотрансфузий, обосновывать необходимость и возможность оперативного вмешательства,

осуществлять экспертизу различных этапов терапии неотложных состояний в экспресс-варианте.

Ожидаемый экономический эффект связан с более простой технологией предлагаемой монодиагностической пробы, облегчающей постановку диагноза гистотоксической гипоксии, предшествующей и сопутствующей развитию экстремальных состояний в организме человека, не требует дефицитных дорогостоящих реактивов, которая может быть легко оплачена больными, будучи назначена врачом, в госпитальных, поликлинических или санаторно-курортных условиях.

Применение способа оценки гипоксического состояния в организме человека при неотложных состояниях дает следующие преимущества: для проведения лабораторного анализа достаточно 2,5 мл цитратной венозной крови, взятой из локтевой вены; предлагаемый способ занимает не более 1 ч и может рассматриваться как экспресс-вариант; он технически прост, но достаточно точен и может быть осуществлен в любой клинической лаборатории; проведение анализов не отягощает состояние больного, может быть совмещено с лечебными внутривенными инъекциями и повторено многократно на протяжении всего срока госпитализации; чувствительность и информативность способа обусловлена выбором именно эритроцитов, которые обычно реагируют даже на незначительные колебания ионно-осмотического гомеостаза циркулирующей крови; применение фотоэлектроколориметрии с использованием калибровочной кривой, снятой на приборе ФЭК-4М промышленного производства, существенно для достижения более высокой степени точности регистрируемого параметра крови; способ позволяет объективизировать различные этапы терапии неотложных состояний, прогнозировать их исход и проводить экспертный анализ адекватности осуществляемого лечения; динамичность колебания плотности оседания эритроцитов при стандартных условиях центрифугирования, обнаруженная нами, отражает изменения ионно-осмотических свойств этих форменных элементов крови после воздействия дегидратационной терапии или переливания гемотрансфузионных заместителей.

Т а б л и ц а 1

Построение калибровочной кривой для определения концентрации гемоглобина на фото-электроколориметре ФЭК-4М

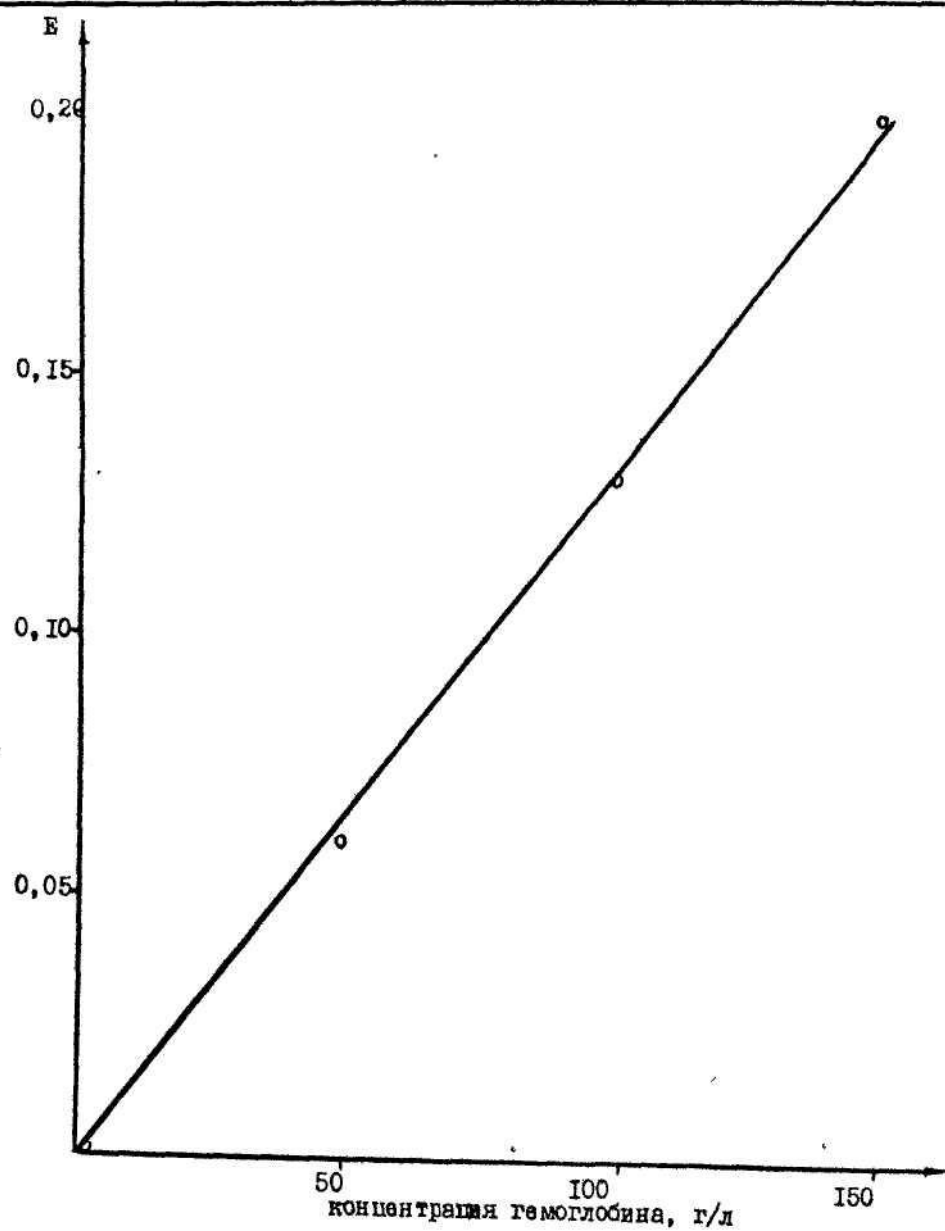
| № п/п | Стандартный раствор, мл | Трансформирующий раствор, мл | Концентрация гемоглобина, г/л | Экстинкция, E |
|-------|-------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------|
| 1 | 0,0 | 6,0 | 0,0 "холостая проба" | 0,00 |
| 2 | 2,0 | 4,0 | 50,0 | 0,06 |
| 3 | 4,0 | 2,0 | 100,0 | 0,13 |
| 4 | 6,0 | 0,0 | 150,0 | 0,20 |

Т а б л и ц а 2

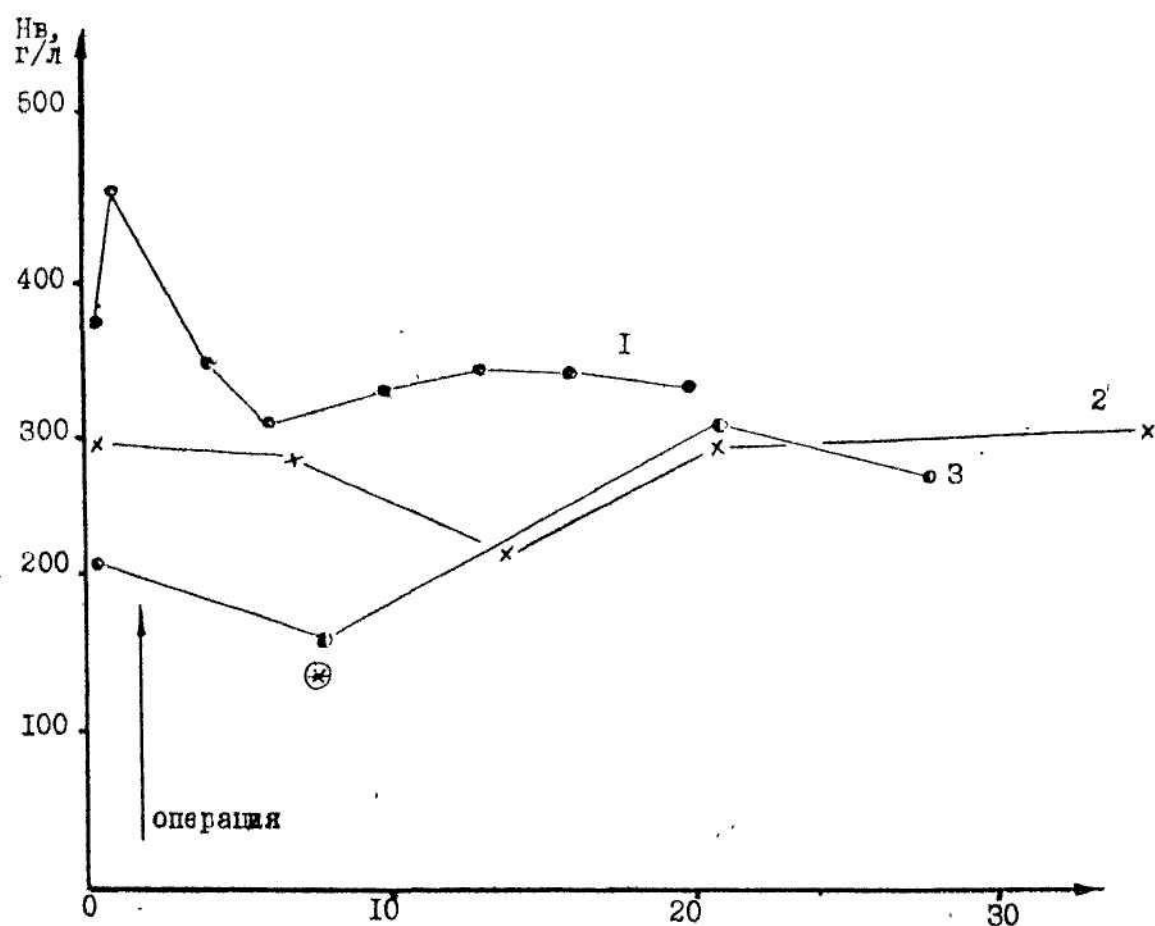
Величина суммарной концентрации гемоглобина в эритроцитарной массе и осмотический индекс эритроцитов в зависимости от пола и возраста доноров

| Пол | Возраст в годах | Количество человек, n | Концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе, C, г/л | | | | Осмотический индекс эритроцитов ОИЭ | |
|----------------------------|-----------------|-----------------------|---|------------------|-----------------|----|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | | | C _{min} | C _{max} | C _{ср} | ±σ | $\frac{C_{min}}{C_{ср}} \cdot 100\%$ | $\frac{C_{max}}{C_{ср}} \cdot 100\%$ |
| М | 20-29 | 26 | 243 | 313 | 278 | 35 | 88 | 113 |
| М | 30-39 | 24 | 233 | 309 | 271 | 38 | 86 | 114 |
| М | 40-49 | 17 | 220 | 300 | 260 | 40 | 85 | 115 |
| В среднем по группе мужчин | | 67 | 232 | 308 | 270 | 38 | 86 | 114 |

| Пол | Возраст в годах | Количество человек, n | Концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе, С, г/л | | | | Осмотический индекс эритроцитов ОИЭ | |
|----------------------------|-----------------|-----------------------|---|-----------|----------|--------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | | | C_{min} | C_{max} | $C_{ср}$ | $\pm \sigma$ | $\frac{C_{min}}{C_{ср}} \cdot 100\%$ | $\frac{C_{max}}{C_{ср}} \cdot 100\%$ |
| Ж | 20-29 | 19 | 201 | 313 | 257 | 56 | 78 | 122 |
| Ж | 30-39 | 18 | 192 | 312 | 252 | 60 | 76 | 124 |
| Ж | 40-49 | 11 | 216 | 296 | 256 | 40 | 84 | 116 |
| В среднем по группе женщин | | 48 | 203 | 307 | 255 | 52 | 80 | 120 |



Фиг. I . Калибровочная кривая для ФЭК-4М.



Фиг. 2. Динамика суммарной концентрации гемоглобина во взвеси эритроцитов у различных больных: 1 — при ушибе головного мозга тяжелой степени; 2 — при менингиоме до и после оперативного удаления; 3 — при раке сигмовидной кишки IV-ой клинической группы.