

**Имммунохимические
маркёры в определении
степени тяжести
ЭНДОТОКСИКОЗА**

Основные термины и определения

Интоксикация (лат. in в, внутрь + греч. toxikon яд) – патологическое состояние, возникающее в результате действия на организм токсических (ядовитых) веществ **эндогенного** или **экзогенного** происхождения.

Соответственно различают **экзогенные** и **эндогенные интоксикации**.

Понятие «интоксикация» нередко отождествляют с понятием «отравление», хотя отравлением принято называть только те **интоксикации**, которые вызваны **экзогенными ядами**.

Основные термины и определения

Под синдромом эндогенной интоксикации (СЭИ) понимают патологическое состояние, в основе которого лежит поражение органов и систем организма, обусловленное накоплением в тканях и биологических жидкостях **ЭНДОТОКСИНОВ**.

Эндотоксины – вещества, оказывающие токсическое воздействие на организм. Это могут быть естественные метаболиты, появляющиеся в высоких концентрациях в тканях и биологических жидкостях (кровь, лимфа, цереброспинальная жидкость) при различных патологических состояниях, а также заведомо агрессивные компоненты.

Основные термины и определения

Выделяют два понятия:
эндотоксикоз и
эндотоксемию.

Эндотоксемия – это патологическое состояние, в основе которого лежит накопление токсичных метаболитов непосредственно в крови.



Основные термины и определения

Эндотоксикозы (*endotoxicoses*; греч. *endō* внутри + *toxikon яд* + *-ōsis*) – это осложнения различных заболеваний, связанные с нарушением гомеостаза вследствие накопления в организме эндотоксинов, возникающие при острой или хронической недостаточности функции системы естественной детоксикации организма (неспособности к эффективному удалению продуктов обмена).

То есть, эндотоксикоз – крайняя степень СЭИ, вызывающая критическое состояние организма и требующее неотложных мер детоксикации.

Основные термины и определения

Для обозначения процессов ликвидации эндотоксикоза используют термины «детоксикация» и «дезинтоксикация».

Последний термин чаще используется для характеристики лечебных методов усиления естественных процессов очищения организма.



Основные термины и определения

Токсикозами иногда называют синдромы, развивающиеся вследствие избыточного поступления в кровь гормона, например, щитовидной железы – *тиреотоксикоз*, а также при осложнениях беременности, связанных с явлениями аутоинтоксикации – *токсикозы беременных*.



Виды эндотоксикоза

- **Травматический эндотоксикоз** – возникает при освобождении тела от сдавления и всасывания в кровь пострадавшего продуктов аутолиза размозженных тканей.
- **Ишемический эндотоксикоз** – нарушения доставки к тканям кислорода, субстратов окисления, удаления продуктов тканевого метаболизма.
- **Инфекционно-воспалительный эндотоксикоз** – формирование местного инфекционно-воспалительного очага как главного источника эндогенной интоксикации.
- **Метаболический эндотоксикоз** – на фоне высокой активности источника образования токсичных веществ собственные природные механизмы детоксикации оказываются несовершенными.
- **Дисгормональный эндотоксикоз** – повышенный выброс гормонов патологически измененными органами внутренней секреции.

Формы эндогенной интоксикации

- **ретенционная**, являющаяся следствием задержки в организме конечных продуктов метаболизма (затруднения выведения возникают при острой почечной, печеночной, дыхательной недостаточности);
- **обменная**, возникающая в результате накопления в организме промежуточных продуктов метаболизма (метаболические нарушения при хронических заболеваниях печени почек, легких, сосудов);
- **резорбционная**, обусловленная всасыванием продуктов распада тканей (при перитоните, артрите, менингите, панкреатите);
- **инфекционная**, связанная с микробными токсинами (например, накопление бактериальных токсинов при инфекционных заболеваниях, газовой гангрене);
- **реперфузионная**, обусловленная всасыванием продуктов распада тканей после восстановления кровообращения в ишемизированных органах и конечностях (при краш-синдроме).

Стадии развития СЭИ

I стадия синдрома эндогенной интоксикации. Реактивно-токсическая возникает в ответ на формирование первичного деструктивного очага или травматического повреждения. Лабораторными признаками этой стадии являются повышение в крови уровней молекул средней массы (МСМ), продуктов перекисного окисления липидов (ДК и МДА), возрастание ЛИИ.

II стадия синдрома эндогенной интоксикации - стадия выраженной токсемии развивается после прорыва гистогематического барьера, когда в циркулирующую кровь попадают эндотоксины, образовавшиеся в первичном очаге интоксикации, с последующим распространением и накоплением в организме. В зависимости от состояния организма, его резистентности и исходного уровня детоксицирующих и иммунных систем выделяют компенсированную и декомпенсированную стадии выраженной токсемии.

Стадии развития СЭИ

III стадия синдрома эндогенной интоксикации – СПОН (СМОД) наблюдается при дальнейшем прогрессировании патологического процесса как следствие тяжелого повреждения эндотоксинами различных органов и систем с развитием их функциональной декомпенсации.

Клинически эта стадия проявляется нарушением сознания, гипоксией, выраженной сердечной недостаточностью, олигурией, паралитической непроходимостью кишечника. В крови определяется высокая концентрация креатинина, мочевины, билирубина.

Этиология СЭИ

Среди *причин* возникновения СЭИ выделяют:

- очаги механического, химического, термического или ишемического повреждения тканей;
- первичные или вторичные инфекционные очаги воспалительной деструкции;
- очаги естественной вегетации микрофлоры в организме (желудочно-кишечный тракт, воздухоносные пути, мочевыделительные пути);
- патологически функционирующие эндокринные органы;
- все ткани организма, находящиеся в условиях гипоксии.

Этиология СЭИ

Этиологические факторы эндотоксикоза



Патогенез СЭИ

В патогенезе эндотоксикоза можно выделить стадии:

компенсации (имеется источник, но биологические барьеры и системы детоксикации состоятельны),

субкомпенсации (относительная несостоятельность барьерных и детоксицирующих функций, токсемия),

декомпенсации или терминальную стадию (полная несостоятельность барьерных и детоксицирующих функций организма, глубокие нарушения метаболизма).

Патогенез СЭИ

Биохимические механизмы развития эндотоксикоза:

- *активация тканевого протеолиза;*
- *активация процессов свободнорадикального окисления;*
- *действие бактериальных токсинов.*

Классификация ЭНДОТОКСИНОВ

- продукты нормального обмена веществ, но в повышенных концентрациях (креатинин, мочеви́на, мочева́я кислота и др.);
- продукты распада тканей вследствие их деструкции (ожоги, разложение);
- соединения, всасываемые из желудочно-кишечного тракта;
- активированные ферменты;
- активаторы и медиаторы воспаления;
- микробные токсины;
- компоненты и медиаторы регулирующих систем в высоких концентрациях;
- продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ);
- иммунологически чужеродные продукты распада клеток.

Патогенез СЭИ

Виды воздействия эндотоксинов:

- *прямое действие* – деструкция белков и липидов клеток, блокада окислительно-восстановительных процессов;
- *непрямое действие* – поражение микроциркуляции внесосудистое (падение сосудистого тонуса) и внутрисосудистое (нарушение реологического состояния крови).
- особо следует отметить место **микробного фактора** в структуре СЭИ, который обеспечивает высвобождение интерлейкинов, лейкотриенов, простагландинов, метаболитов кислорода, фактора активации тромбоцитов, серотонина, фактора Виллебранда, оксида азота, фактора Хагемана, лизосомальных ферментов.

Патогенез СЭИ

Механизм действия бактериальных токсинов :

Эндотоксин

Экзотоксин

Механизм действия

Внутриклеточные процессы:

Высвобождение биологически-активных веществ:

- Фермент-необратимая трансформация А5ДФ
- Литический фермент — растворяет цитоплазматическую мембрану
- Ингибитор нейротрансмиттеров — блокирует синаптическую передачу мотонейронов

- Моноциты/макрофаги: IL-1,3,6,8,10,12,15; PGE, LT, TNF, NO, TxA, O-metabolites, PAF, elastase
- Нейтрофилы: MO, PO, PAP, LTB, elastase, O-metabolites
- Тромбоциты: TxA, Serotonine
- Эндотелиальные клетки: ф.Виллебранда.NO
- Лизосомальные ферменты
- ф.Хагемана

Патогенез СЭИ

Продукты перекисного окисления:

- Практически при любой патологии и любом неблагоприятном (стрессовом) воздействии на организм активируются

процессы свободнорадикального окисления, что приводит к накоплению токсических веществ, которые относят к эндотоксинам.

- Повышение в сыворотке крови содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также увеличение активности ферментов детоксикации активных форм кислорода являются неспецифическими тестами эндотоксикоза.

Патогенез СЭИ

Продукты перекисного окисления:

- Продукты распада липидов (альдегиды, диальдегиды, эпоксиды) оказывают повреждающее действие на различные структуры клетки, белки, нуклеиновые кислоты и другие структуры, следовательно, являются эндопатогенами.
- Перекисное повреждение белков приводит к их деградации и образованию токсических фрагментов, в том числе, молекул средней массы.

Патогенез СЭИ

Молекулы средней массы (МСМ):

По химической природе группа МСМ неоднородна.

80 % МСМ с молекулярной массой от 500 до 5000 Д принадлежат продуктам нарушенного белкового обмена, а 20 % - относятся к биологически активным веществам и соединениям промежуточного обмена.

В их состав входят около 30 биологически-активных пептидов, среди них вазопрессин, окситоцин, ангиотензин, глюкагон, кальцитонин, АКТГ, глюкагон, кальцитонин, липофусцин, а также полиамины, многоатомные спирты, углеводы, атерогенно окисленные липопротеины и многие другие.

Среди МСМ особый интерес представляют пептиды - продукты деградации фибрина (ПДФ).

Патогенез СЭИ

Молекулы средней массы (МСМ):

По химической природе группа МСМ неоднородна.

80 % МСМ с молекулярной массой от 500 до 5000 Д принадлежат продуктам нарушенного белкового обмена, а 20 % - относятся к биологически активным веществам и соединениям промежуточного обмена.

В их состав входят около 30 биологически-активных пептидов, среди них вазопрессин, окситоцин, ангиотензин, глюкагон, кальцитонин, АКТГ, глюкагон, кальцитонин, липофусцин, а также полиамины, многоатомные спирты, углеводы, атерогенно окисленные липопротеины и многие другие.

Среди МСМ особый интерес представляют пептиды - продукты деградации фибрина (ПДФ).

Патогенез СЭИ

Молекулы средней массы (МСМ):

МСМ следует разделить по свойствам растворимости на *водорастворимые* и *гидрофобные*.

Водорастворимые МСМ фильтруются почками, и их содержание в крови зависит от *функционального состояния почек* и скорости образования токсинов.

Гидрофобные токсины, которые обладают высоким сродством к биологическим структурам, находятся в плазме в связанном состоянии в виде комплексов с альбумином и липопротеинами низкой плотности, и их считают наиболее токсичными. При СЭИ конформационная структура альбумина изменяется, что отразится на его *связывающей способности*.

Патогенез СЭИ

Биологическое действие МСМ

МСМ обладают нейротоксической активностью, угнетают процессы биосинтеза белка, способны подавлять активность ряда ферментов, разобщают процессы окисления и фосфорилирования, нарушают механизмы регуляции синтеза адениловых нуклеотидов, изменяют транспорт ионов через мембраны, эритропоэз, фагоцитоз, микроциркуляцию, лимфодинамику, тонус гладкомышечных клеток, трансваскулярный транспорт, вызывают состояние вторичной иммунодепрессии.

Нейро- и психотоксические эффекты МСМ связаны с образованием ложных нейромедиаторов.

Патогенез СЭИ

Биологическое действие МСМ

МСМ способны соединяться и блокировать рецепторы любой клетки, неадекватно влияя на её метаболизм и функции, могут взаимодействовать с компонентами систем гемостаза.

Особенностью токсического действия средних молекул является то, что они обладают прямым мембранотоксическим действием и инициируют появление пептидов, по структуре близких к биорегуляторам.

Среди них выделяют «гепатоцеребральные», «уремические», «ишемические», «ожоговые» МСМ.

Иммунологические свойства МСМ

- Установлено, что по химическому составу МСМ являются гликопептидами, при электрофорезе в ПААГ чаще всего идентифицируются в зоне альбуминов и преальбуминов
- Попытки иммунизации кроликов фракцией МСМ чаще всего не вызывают выработки антител у иммунизированных животных, вследствие низкой иммуногенности МСМ
- Иммунизация МСМ, конъюгированными с альбумином выявила антитела к МСМ
- Наиболее высокий титр антител выявляется к ожоговым МСМ, разрабатывается ИФА

Оценка степени тяжести СЭИ

Оценка эндотоксикоза только путем определения степени тяжести интоксикации не всегда дает возможность для решения вопроса о способе коррекции СЭИ.

Условно показатели, отражающие степень СЭИ и состояние системы детоксикации, можно разделить на:

- биохимические маркеры ЭИ;
- иммунологические маркеры ЭИ;
- интегральные маркеры ЭИ.

В условиях интенсивной терапии необходимо минимум ежесуточное определение соотношения степени СЭИ и функциональной системы детоксикации.

Оценка степени тяжести СЭИ

Критерий	Степень интоксикации		
	I	II	III
Цвет кожных покровов	Нормальный	Бледный, гиперемия лица	Землистый, гиперемия лица, акроцианоз
АД, мм.рт.ст.	Норма, склонность к гипотонии	Гипотония	Гипотония, возможен септический шок
ЧСС, уд/мин	До 110	110-130	130, аритмия
ЦВД, мм.вод.ст.	+20-40	+0-	Отрицательное
ЧД, 1 в мин	До 26	32-36	Более 36
Нарушение функций ЦНС	Легкая эйфория	Заторможенность, психомоторное возбуждение	Интоксикационный делирий, кома
Перистальтика кишечника	Несколько снижена	Отсутствует	Отсутствует
Суточный диурез, мл.	1000	800-1000	Менее 800
Мочевина, ммоль/л	12	16	Более 18
Креатинин, мкмоль/л	80	130-200	Более 200
АсТ, нмоль/с.л./	170	190-200	Более 200
АлТ, нмоль/с.л./	200	260-300	Более 300
Билирубин, мкмоль/л	12-20	20-50	Более 50
Лейкоциты, 10 ⁹	Менее 12	12-18	Более 18
ЛИИ, у.е.	1-3	4-6	Более 6
МСМ, у.е.	0,3	0,4-0,8	Более 0,8

Физиологические системы детоксикации

1. Биологическая трансформация токсинов в печени (моноаминооксидазная функция печени).
2. Разведение и связывание токсических субстанций (аутогемоделиция, биосинтез нетоксичных конъюгатов, функционирование иммунной системы).
3. Удаление токсических субстанций (нормальное функциональное состояние почек, печени, легких, ЖКТ, кожи, преграда для распространения токсинов).

Методы оценки степени эндотоксикоза

Интегральные показатели токсичности плазмы крови (лимфы) – лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) и индекс сдвига нейтрофилов.

Лабораторная диагностика эндотоксикоза включает **биохимические,**

биофизические и

гематологические методы,

а также постановку различных **биологических проб.**

Например, парамецийный (или тетрахименовый) тест, основанный на измерении времени выживания одноклеточных (парамеций или тетрахимен) в биологической среде (крови, лимфе).

Методы оценки степени эндотоксикоза

Некоторые лабораторные биохимические исследования имеют специфический характер для данного вида поражений, вызывающих эндотоксикоз, например определение

миоглобина в крови и моче *при травме*, активности *ферментов* – при *панкреатите*, *бактериемии* – при *сепсисе*.

При *нефропатии* исследуют состав мочи, концентрацию *креатинина*, *мочевины* в плазме, при *гепатопатии* – проводят анализ крови на *билирубин*, *трансаминазы*, белки, холестерин и др.

Методы оценки степени эндотоксикоза

Специфические методы позволяют выявить действие токсических агентов, вызывающих синдром интоксикации: выделение конкретного токсического агента; метод биотестирования; реакция клапанного аппарата лимфатического сосуда брыжейки кишки; парамецийный тест; тетрахименовый тест; тест с семенным материалом быка; лимулис-тест; биомикроскопия конъюнктивы глаза; подвижность ядер букального эпителия в электрическом поле.

Методы оценки степени эндотоксикоза

Условно специфические позволяют выявить интоксикацию на клетках крови – эритроцитах и лейкоцитах: угнетение миграции лейкоцитов; фрагментация ядра лейкоцитов; реакция везикулообразования; реакция спонтанного лизиса лейкоцитов; тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест); катионно-лизосомальный тест; лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ); токсикогенная зернистость нейтрофилов; тест осмотической резистентности эритроцитов; тест на способность эритроцитов сорбировать метиленовый синий; тест токсической зернистости эритроцитов; оценка МСМ и олигопептидов эритроцитов.

Методы оценки степени эндотоксикоза

Неспецифические отражают либо воспалительную реакцию организма, либо изменения метаболизма: МСМ по Н.И. Габриэлян; вещества низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) по М.Я. Малаховой; олигопептиды по М. Глинскому; олигопептиды по Лоури; регистрация сверхмедленных колебаний потенциалов в милливольтовом секундном и декасекундном диапазонах; уровень мочевины в биологических жидкостях; уровень плазменного фибронектина и церулоплазмينا.

Гематологические показатели эндотоксикоза

- Гематологическими маркерами ЭИ являются показатели, отражающие количественное соотношение лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов – основных элементов клеточного иммунного ответа.
- Лейкоцитоз (увеличение количества лейкоцитов в венозной крови ($> 10 \times 10^9/\text{л}$)). При оценке степени выраженности интоксикации лейкоцитоз следует учитывать наряду с другими признаками, свидетельствующими о длительности заболевания, распространенности патологического процесса и его динамики. При тяжелом течении эндотоксикоза в периферической крови нарастает лейкоцитоз с тенденцией к очень высоким цифрам – $25-30 \times 10^9$.

Гематологические показатели эндотоксикоза

Сдвиг лейкоцитарной формулы влево, токсическая зернистость нейтрофилов.

Лейкоцитарная формула изменяется за счет увеличения количества нейтрофилов (палочкоядерных и миелоцитов). Такое изменение лейкоцитарной формулы носит название **сдвига влево**.

Для количественного выражения сдвига лейкоцитарной формулы рассчитывается **индекс сдвига лейкоцитарных клеток** (норма = 1,96), как отношение суммы эозинофилов, базофилов и нейтрофилов к сумме мононуклеаров (лимфоцитов и моноцитов):

Гематологические показатели эндотоксикоза

Для оценки степени интоксикации уже около 80 лет пристальное внимание врачей всех специальностей привлекают расчетные индексы, отражающие соотношение различных классов лейкоцитов в составе периферической крови.

Некоторые из них, такие как лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) Кальф-Калифа, ЛИИ Островского, ЛИИ Химич, ЛИИ Яблучанского, ядерный индекс Даштаянц Г.А. характеризуют степень интоксикации.

Другие свидетельствуют о наличии дисбаланса иммунной системы (Островский В.К. и соавт., 2006).

Гематологические показатели эндотоксикоза

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)

Впервые формула ЛИИ была предложена Я.Я.Кальф-Калифом в 1941 году (Кальф-Калиф Я.Я., 1941). Формула имеет следующий вид:

$$ЛИИ = \frac{(4M + 3Ю + 2П + С) \times (Пл + 1)}{(Л + Мон) \times (Э + 1)},$$

где: *M* - миелоциты, *Ю* - юные, *П* - палочкоядерные, *С* - сегментоядерные, *Пл* - плазматические клетки Тюрка, *Л* - лимфоциты, *Мон* - моноциты, *Э* - эозинофилы.

Гематологические показатели эндотоксикоза

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)

- Нормальные значения ЛИИ колеблются от 0,3 до 1,5 у.е., повышение ее до 4-5 свидетельствует о значительном бактериальном компоненте эндогенной интоксикации, тогда как умеренное повышение ЛИИ до 2-3 указывает либо на ограничение инфекционного процесса, либо на распад тканей.
- Высокий ЛИИ с лейкопенией всегда является тревожным симптомом.

Гематологические показатели эндотоксикоза

При сохранении принципов формулы ЛИИ Кальф-Калифа предложена формула (Островский В.К. и соавт., 2006), представляющая отношение процентного содержания нейтрофилов к сумме процентного содержания остальных клеток лейкоформулы:

$$ЛИИ = \frac{M + Пл + Ю + С}{L + Мон + Э + Б} ,$$

где: *Б* – базофилы.

Авторы модифицированного метода установили, что норма ЛИИ составляет от 1 до 3.

ЛИИ более 3 у.е. соответствует эндотоксикозу I степени, более 5 – эндотоксикозу II степени и свыше 6,5 – эндотоксикозу III степени.

Гематологические показатели эндотоксикоза

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)

Сам Кальф-Калиф и его последователи указывали, что недостатком ЛИИ является тот факт, что формула не учитывает степень лейкоцитоза, а также не работает при появлении у больного признаков аллергизации.

Для коррекции этого недостатка была разработан вариант формулы ЛИИ С.Ф. Хомича в модификации А.Л. Костюченко и соавт. (2000):

$$ЛИИ = \frac{0,1 \times \text{количество лейкоцитов (тыс. в мкл)} \times \text{нейтрофилы (\%)}}{100 - \text{нейтрофилы (\%)}}$$

Гематологические показатели эндотоксикоза

Ядерный индекс интоксикации (Даштаянц Г.А., 1978).

Ядерный индекс интоксикации (индекс ядерного сдвига) высчитывают по формуле:

$$ЯИИ = \frac{Мц + Ю + П}{С} ,$$

где: *Мц* – миелоциты.

При ЯИИ, равном не более 0,1, состояние больного оценивается как удовлетворительное,
0,3-1,0 – эндотоксикоз средней степени тяжести,
более 1,0 – эндотоксикоз тяжелой степени.

Гематологические показатели эндотоксикоза

Коэффициент нейтрофилы/лимфоциты

Коэффициент нейтрофилы/лимфоциты
(отношение клеток неспецифической и специфической защиты).

В норме коэффициент равен 2,0.

Увеличение коэффициента до 4,0 и более свидетельствует о нарастании тяжелой интоксикации.

Иммунохимический аналог ЛИИ

Установлена прямая тесная корреляция между степенью **лейкоцитоза** и уровнем **лактоферрина** в плазме крови

Имеется такая же взаимосвязь между содержанием в крови **гранулоцитов** и **катионным белком лейкоцитов**

На основании этой информации может быть разработан **иммунохимический аналог коэффициента нейтрофилы/лимфоциты**

Биохимические показатели эндотоксикоза

- Универсальными маркерами эндотоксикоза, отражающими уровень энергодефицита и недостаток кислорода, являются молочная кислота, пировиноградная кислота и аденозотрифосфатаза (АТФ) клеток. Триада: повышение концентрации сахара, лактата и пирувата отражает энергетическую несостоятельность клетки.
- Из конечных продуктов обмена белка естественными являются мочевина и креатинин. Их накопление сопровождается нарушением нейрогуморального контроля центральной нервной системы (ЦНС) и отражают наличие ЭИ при увеличении содержания мочевины от 16 ммоль/л и креатинина свыше 0,2 мкмоль/л (норма – 2–8 ммоль/л и 0,1 мкмоль/л соответственно).

Биохимические показатели эндотоксикоза

Маркерами эндотоксикоза считают целый ряд вазоактивных метаболитов, накопление которых формирует нарушение макро- и микроциркуляции, нарушает проницаемость мембран с последующим развитием «шоковых» органов.

Так, адреналин, его повышенный уровень, оказывает циркуляторно-метаболический эффект — констрикцию пре- и посткапиллярных артериол; увеличение уровня серотонина способствует развитию «серотонинового инфаркта» и «шокового легкого».

Биохимические показатели эндотоксикоза

Маркерами ЭИ могут быть и такие низкомолекулярные соединения, как аминокислоты. Наиболее токсичными являются метионин и его дериваты – аммиак, метилмеркаптан, метан, диметилсульфид. Эти соединения ответственны за развитие энцефалопатии и комы, как и такие продукты, как 5-гидрокситриптамин, норадреналин, дофамин.

Токсическими свойствами в больших концентрациях обладают и ароматические аминокислоты – фенилаланин и тирозин. Одним из самых токсичных продуктов при нарушении обмена тирозина и фенилаланина является фенол.

Нарушение содержания триптофана приводит к накоплению токсического метаболита 5-гидроксилюксусной кислоты.

Биохимические показатели эндотоксикоза

Билирубин обладает широким спектром токсического влияния, главным образом являясь мембранотоксином: встраиваясь в мембраны и проникая в клетку, он повреждает липиды митохондрий, вызывает их необратимое набухание. Диффундируя через клеточные мембраны в цереброспинальную жидкость, в ткани, билирубин может оставаться свободным, не связанным с альбумином как в результате гипоальбуминемии, так и вследствие вытеснения его из комплекса с альбумином сульфаниламидами, гормонами, салицилатами.

Биохимические показатели эндотоксикоза

Поскольку белок плазмы обеспечивает онкотическую, транспортную, осмотическую, эстеразную, эндопептидазную функции, а также регуляцию активности ферментных систем, поэтому концентрацию альбумина можно рассматривать как важный маркер эндотоксикоза, а уменьшение концентрации общего белка за счет альбуминовой фракции – как важнейшего фактора плазматической детоксикации, связывания и удаления токсинов.

Снижение общего уровня белка до 45 г/л (65-80 г/л в норме) считают неблагоприятным прогностическим признаком, что свидетельствует о тяжелой эндогенной интоксикации.

Биохимические показатели эндотоксикоза

Токсическая энзимопатия – маркер эндотоксикоза как отражение интенсивности повреждения клеточных мембран.

Индикаторные ферменты – АлАТ, АсАТ, ЛДГ (изоферменты I, II, V) – отражают степень нарушения проницаемости мембран клеток.

Лизосомальные ферменты – ДНКаза, РНКаза, кислая фосфатаза, катепсин Д – отражают степень деструкции клеток и лизиса внутриклеточных белков, а также энергодефицита клетки.

Предлагается также определять протеолитическую активность сыворотки крови.

Биохимические показатели эндотоксикоза

При выраженном интоксикационном синдроме эндогенной и экзогенной этиологии усиливаются свободнорадикальные процессы и появляются в избыточных количествах активные формы кислорода (АФК), что приводит к перекисному окислению субстратов и появлению различных агрессивных факторов эндогенной природы в межклеточной среде и затем в крови, инициируя окислительный стресс.

Серьезным повреждающим действием и токсическим эффектом обладают продукты «окислительного стресса», маркерами которых являются диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, перекисный гемолиз, гидроперекиси, эпоксиды.

Биохимические показатели эндотоксикоза

На принципе определения продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), модифицированных АФК белков существуют способы оценки СЭИ.

Наиболее адекватными современными методами оценки интенсивности ПОЛ в организме являются методы определения конечных продуктов этого процесса – *липофусцинподобного пигмента* и удаляемых с *выдыхаемым воздухом низших углеводов* – этана, пентана и др. Определение этих показателей требует наличия газожидкостного хроматографа, спектрофлуориметра, масс-спектрометра и поэтому мало приемлемо для отечественных клинико-диагностических лабораторий.

Биохимические показатели эндотоксикоза

Более реально измерение содержания промежуточных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов, гидроперекисей и малонового диальдегида (МДА), хотя их стационарные концентрации в крови и тканях могут и не создавать истинной картины состояния процессов ПОЛ в живом организме.

Недостатком способов определения ПОЛ является очень сложная взаимосвязь между степенью интоксикации и уровнем окислительного стресса, включающего не только процессы пероксидации, но и компенсаторной активации антиокислительных систем, нейтрализующих физиологичный избыток образованных АФК.

Биохимические показатели эндотоксикоза

Из иммунологических показателей для оценки эндогенной интоксикации предложено использовать экспрессию макрофагами и секрецию в кровь растворимых СВ14-рецепторов и концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Биохимические лабораторные показатели в норме

- Мочевина до 8 ммоль/л
- Креатинин до 1 ммоль/л
- Билирубин до 20 ммоль/л
- АсАТ – 0,5 ммоль/л
- АлАТ – 0,8 ммоль/л
- Протеолитическая активность сыворотки: $3,1 \pm 0,4$
- Общий белок: 70-80 г/л
- ЦИК: до 30 условных единиц

Биохимические показатели эндотоксикоза

- На сегодняшний день общепринятыми универсальными биохимическими маркерами степени эндогенной интоксикации считаются только два метода:
- определение среднемолекулярных олигопептидов – молекул средней массы (МСМ) с массой от 500 до 5000 дальтон;
- определение общей и эффективной концентрации альбумина в сыворотке крови и токсин-связывающей способности альбумина (ССА).

Методы определения МСМ

Методы, позволяющие определить веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) разнообразны:

- методы ультрафильтрации через мембраны, имеющие строго определенный размер пор;
- методы гель-фильтрации на различных носителях;
- метод жидкостной хроматографии под высоким давлением;
- спектрометрические методы определения пула ВНСММ и олигопептидов, остающихся в растворе после осаждения крупномолекулярных.
- Наиболее точно фракцию МСМ можно выделить методом гель-хроматографии. Однако этот метод очень дорогостоящий и трудоемкий, не нашел широко клинического применения.

Методы определения МСМ

О содержании среднемолекулярных пептидов в условиях клиники можно судить на основании прямой спектрометрии депротеинизированного супернатанта, полученного после осаждения белков сыворотки, плазмы, экссудата, мочи и любого другого биологического материала равным объемом 10% раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ) при длинах волн 254 нм и 280 нм.

Норма ВНСММ до 0,2 у.е.

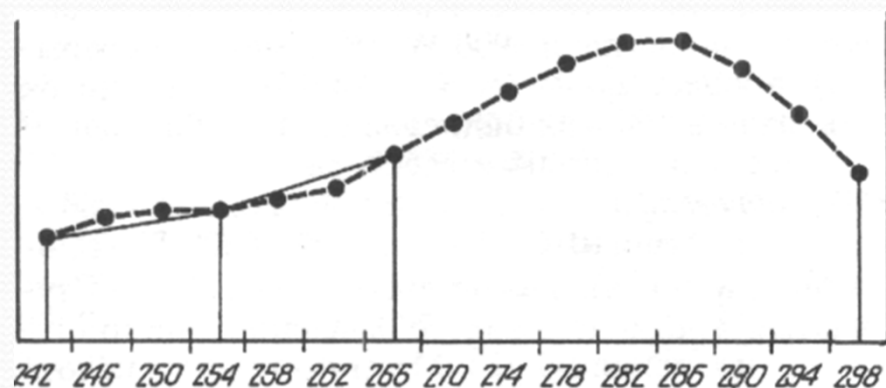
Методы определения МСМ

Предложен более чувствительный и простой новый тест в диагностике интоксикации организма, и он заключается в определении концентрации тирозин-содержащих пептидов, имеющих экстинцию (оптическую плотность при 280 нм). Для этого был предложен коэффициент E_{280}/E_{254} , так называемый коэффициент распределения.

Далее были предложены другие коэффициенты: пептидно-нуклеотидного распределения и коэффициент ароматичности. Пептидно-нуклеотидный коэффициент рассчитывается по формуле соотношения экстинкций E_{238}/E_{260} , который указывает на соотношение сдвигов в содержании пептидов и нуклеотидов в пуле ВНСММ.

Методы определения МСМ

Согласно рекомендации Малаховой М.Я. (1995), суммарное содержание ВНСММ необходимо оценивать по площади под спектральной кривой оптического поглощения пробы в области 238-300 нм



Спектрограмма ВНСММ.

По оси абсцисс -длина волны (в нм);

по оси ординат — величина поглощения образца.

Методы определения МСМ

- Уровень ВНСММ (МСМ) чаще измеряют в плазме и сыворотке, реже – в эритроцитах, тромбоцитах, моче и слюне. Определение МСМ лучше проводить в цельной крови.
- Диагностическое значение этих веществ велико как при воспалениях разного характера, так и при токсикозах разного происхождения.
- Показано, что на ранних стадиях эндогенной интоксикации уровень МСМ возрастает по сравнению с нормой в среднем на 20-30 %, на средней стадии – на 100-200 %, поздних – на 300-400 %.
- При острых отравлениях психотропными препаратами показано увеличение СПМ в 1,5 раза.

Методы определения МСМ

- МСМ₂₈₀ менее 0,30 ед. оптической плотности соответствует норме среднемолекулярных соединений в плазме крови,
- от 0,30 до 0,42 – эндотоксикозу I степени (компенсированному),
- выше 0,42 и до 0,55 – субкомпенсированному эндотоксикозу II степени и
- свыше 0,55 – декомпенсированному эндотоксикозу III степени
- Длительность выполнения исследования (1,5 часа).

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Альбумин – основной сывороточный белок (около 60% общего белка сыворотки) выполняет важную функцию по транспортировке многих биологически активных веществ, в частности, гормонов. Он способен связываться с холестерином, билирубином. Значительная часть кальция крови также связана с альбумином.

Альбумин способен соединяться с различными лекарственными веществами, метаболитами и токсинами различного происхождения.

Онкотическое давление плазмы крови на 65-80% обусловлено альбумином.

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Концентрация альбумина в сыворотке крови в норме 35-50 г/л. Определяется на автоматических анализаторах по связыванию красителей и флюоресцентных меток.

Гиперальбуминемия наблюдается при дегидратации в случаях тяжелых травм, при обширных ожогах, холере. *Гипоальбуминемии* у взрослых обусловлены различными патологическими состояниями, аналогичными тем, которые вызывают гипопроотеинемия. Снижение содержания альбуминов ниже 22-24 г/л сопровождается развитием отека легких.

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Наиболее современным методом диагностики степени эндогенной и экзогенной интоксикации является способ определения связывающей способности альбумина (ССА) в сыворотке крови.

Определение альбумина иммунохимическими методами в условиях клиники как правило не проводится.

Сертифицированная тест-система для иммунохимического определения концентрации различных типов альбумина имеется в банке тест-систем кафедры биологической химии Астраханского государственного медицинского университета.

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Флюоресцентный метод оценки транспортной способности альбумина

Данный способ определения связывающей способности альбумина (ССА) на основе измерения связывающей емкости альбумина в сыворотке крови заключается в добавления к отцентрифугированной разбавленной в 120-2000 раз сыворотке флюоресцентного вещества N-карбоксифенилимид диметиламинонафталевой кислоты (K-35), избирательно взаимодействующего с альбумином, с последующим измерением количества получаемого продукта на флюориметре и сравнением его уровня с контрольной сывороткой.

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

В данном способе определяется общая (ОКА) и эффективная концентрация альбумина (ЭКА) и рассчитывается резерв связывающей способности альбумина (РССА), он же индекс токсичности (ИТ):

$$ИТ = \frac{ОКА}{ЭКА} - 1 ,$$

отражающий степень связывания альбумином токсичных субстанций в сыворотке крови.

По ОКА можно судить о развившемся по той или иной причине дефиците этой фракции в количественном отношении; ЭКА является качественной характеристикой его транспортных свойств.

Методы оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Существует методы, основанные на блокировании эндотоксинами способности альбумина плазмы крови взаимодействовать с тиазолидином с образованием окрашенного тройного комплекса, и связанные с определением флуоресцирующих продуктов в плазме крови после добавления пероксида водорода и ионов меди.

В качестве показателя уровня эндогенной интоксикации предложено использовать коэффициент эндогенной интоксикации, рассчитанный по формуле:

$$\text{КЭИ} = \text{МСМ} / \text{ЭКА} \times 1000$$

Новый иммунохимический метод оценки связывающей способности альбумина (ССА)

Сначала измеряют любым иммунохимическим методом общую концентрацию альбумина (ОКА) в пробе разбавленной крови пациента или здорового донора.

Затем пробирку с образцом этой же разбавленной крови инкубируют в кипящей водяной бане в течение 3 минут, повторно определяют концентрацию термостабильного альбумина (КТА) в прогретой пробе и при снижении концентрации белка в пробе после прогревания более, чем в 25 раз оценивают результат анализа как отсутствие интоксикации.

Новый иммунохимический метод оценки связывающей способности альбумина (ССА)

- При снижении в 25-21 раз – как интоксикацию легкой степени, при снижении в 20-16 раза – как интоксикацию средней степени,
- а при снижении концентрации белка менее чем в 16 раз – как интоксикацию тяжелой степени.
- Для определения степени интоксикации данным способом можно использовать любой жидкий лабораторный материал: цельную кровь, сыворотку крови, плазму крови, экссудат, транссудат, ротовую жидкость, плевральный выпот, перитонеальную жидкость, эякулят, ликвор.

Новый иммунохимический метод оценки связывающей способности альбумина (ССА)

- Определение концентрации альбумина в пробе может проводиться любым доступным биохимическим (Брэдфорд; Лоури) или иммунохимическим методом (радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини, иммунотурбидиметрии или «ракетного» иммуноэлектрофореза по Лоурелю с применением антител к сывороточному альбумину человека).

Тесты, которые могут быть переведены на ИФА

Показатели	Норма	ЭИ I ст	ЭИ II ст	ЭИ III ст
ЛИИ	< 3,0	3,0-5,0	5,1-6,5	6,6 и >
МСМ₂₈₀	< 0,30	0,30-0,42	0,43-0,55	0,56 и >
ОКА/КТА	> 25	25-21	20-16	< 16

Спасибо за внимание.

