

Исследование цереброспиналь ной жидкости

Головной мозг покрыт тремя соединительно-тканными оболочками:

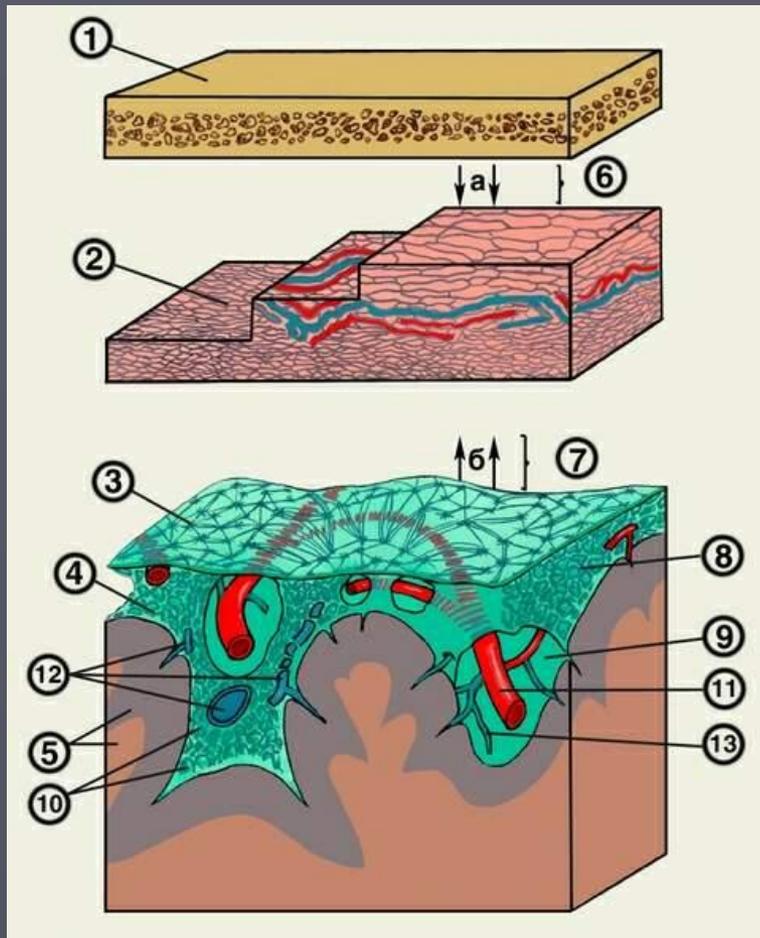
- ▶ твердой
- ▶ паутинной (или арахноидальной)
- ▶ мягкой

Оболочки головного мозга в области большого затылочного отверстия переходят в оболочки спинного мозга

Схема строения мозговых оболочек полушарий головного мозга

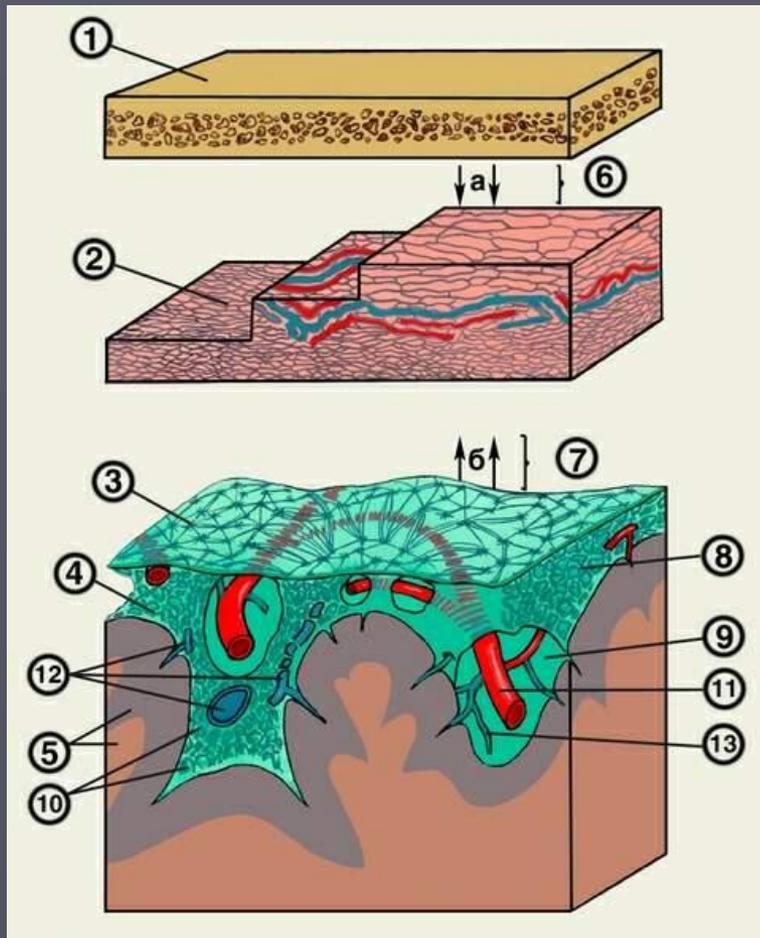
- ▶ 1 — фрагмент кости свода черепа;
- ▶ 2 — твердая оболочка мозга;
- ▶ 3 — паутинная оболочка;
- ▶ 4 — мягкая (сосудистая) оболочка;
- ▶ 5 — головной мозг;
- ▶ 6 — эпидуральное пространство;
- ▶ 7 — субдуральное пространство;
- ▶ 8 — субарахноидальное пространство;
- ▶ 9 — система ликвороносных каналов;
- ▶ 10 — субарахноидальные ячеи;
- ▶ 11 — артерии в ликвороносных каналах;
- ▶ 12 — вены в системе субарахноидальных ячеей;
- ▶ 13 — струны — конструкции, стабилизирующие артерии в просвете ликвороносных каналов: стрелки указывают направление оттока эпидуральной жидкости в наружную (а) и внутреннюю (б) капиллярную сеть твердой мозговой оболочки.

Твердая мозговая оболочка



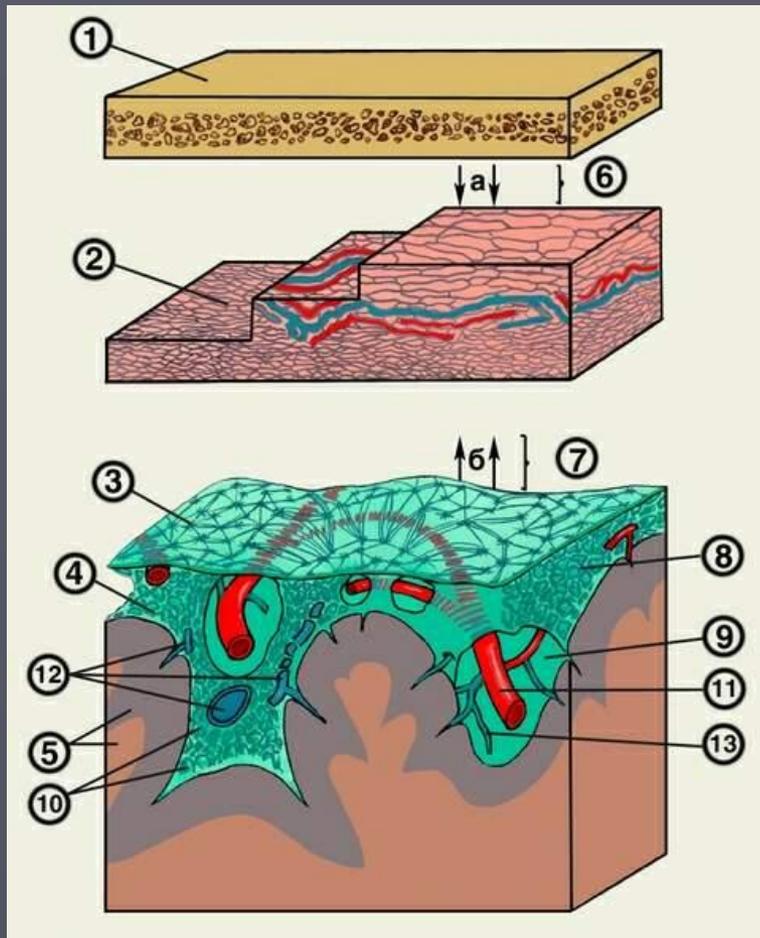
- ▶ Выстилает изнутри полость черепа и спинномозгового канала.
- ▶ Отличается от двух других особой плотностью, прочностью, наличием большого количества коллагеновых и эластических волокон.
- ▶ С костями свода (крыши) черепа твердая оболочка головного мозга связана непрочно и легко от них отделяется

Паутинная мозговая оболочка



- ▶ Располагается кнутри от твердой оболочки головного мозга.
- ▶ Она тонкая и прозрачная
- ▶ В отличие от мягкой оболочки (сосудистой) не проникает в щели между отдельными частями мозга и в борозды полушарий и ложится над бороздами.
- ▶ От мягкой оболочки головного мозга паутинная отделена подпаутинным (субарахноидальным) пространством, в котором содержится цереброспинальная жидкость
- ▶ В местах, где паутинная оболочка располагается над широкими и глубокими бороздами, подпаутинное пространство расширено и образует подпаутинные цистерны
- ▶ Паутинная оболочка соединяется с лежащей на поверхности мозга мягкой оболочкой многочисленными тонкими пучками коллагеновых и эластических волокон.

Мягкая (сосудистая) мозговая оболочка



- ▶ Самая внутренняя оболочка мозга.
- ▶ Плотно прилежит к наружной поверхности мозга и заходит во все щели и борозды.
- ▶ Состоит из рыхлой соединительной ткани, в толще которой располагаются кровеносные сосуды, направляющиеся к головному мозгу и питающие его.
- ▶ В определенных местах мягкая оболочка проникает в полости желудочков мозга и образует сосудистые сплетения, продуцирующие спинномозговую жидкость.

Мозговые оболочки выполняют следующие функции:

- ▶ Защищают мозг от механических повреждений
- ▶ Защищают мозг от попадания болезнетворных микробов
- ▶ Содержат кровеносные сосуды, участвующие в секреции цереброспинальной жидкости (ЦСЖ)

ЦСЖ (цереброспинальная жидкость, спинномозговая жидкость, ликвор) – жидкая среда, которая заполняет субарахноидальное пространство, окружающее спинной и головной мозг, а также их внутренние полости.

Функции ЦСЖ

- ▶ Предохраняет головной и спинной мозг от механических воздействий.
- ▶ Обеспечивает поддержание постоянного внутричерепного давления и водно-электролитного гомеостаза.
- ▶ Поддерживает трофические и обменные процессы между кровью и мозгом.

Показания для люмбарной пункции

- ▶ Диагностика инфекций ЦНС.
- ▶ Диагностика кровоизлияний.
- ▶ Диагностика воспалительных, дегенеративных и демиелинизирующих заболеваний.
- ▶ Люмбарная пункция является лечебной процедурой при внутрижелудочковых кровоизлияниях у недоношенных и в случаях доброкачественной внутричерепной гипертензии.

Техника проведения люмбарной пункции

- ▶ Процедура обязательно проводится в стационарных условиях.
- ▶ В положении больного лежа на боку с приведенными к груди коленями.
- ▶ Пояснично-крестцовая область обрабатывается раствором Бетадина и обкладывается стерильными простынями.
- ▶ Далее выполняется инъекция местного анестетика и вводится игла по средней линии между L5 и SI позвонками у новорожденных, L4 и L5-у младенцев и между L3 и L4 - у детей более старшего возраста и у взрослых.
- ▶ Игла всегда должна вводиться с мандреном. После прокола мандрен убирается и с помощью манометра измеряется первоначальное давление ликвора (давление открытия).
- ▶ Ликвор спонтанно вытекает и собирается в стерильный сосуд. После взятия жидкости на исследование должно быть вновь измерено ликворное давление (давление закрытия).
- ▶ По завершении процедуры в иглу вновь вставляется мандрен и она вынимается. На место пункции накладывается повязка

Противопоказания для люмбарной пункции.

- ▶ Перед проведением ЛП должно быть выполнено исследование глазного дна для исключения отека дисков зрительных нервов и тщательное неврологическое обследование с целью оценки очаговых неврологических симптомов. При малейшем подозрении на повышение внутричерепного давления (ВЧД) вследствие очагового объемного поражения головного мозга, до проведения ЛП должна быть сделана КТ. При выявлении объемного процесса на фоне повышенного ВЧД люмбальная пункция противопоказана в связи с опасностью вклинения.
- ▶ 2. ЛП не должна выполняться при наличии инфекции в поясничной области (как кожной, так и эпидуральной локализации), поскольку существует риск попадания бактерий в ликвор с развитием менингита.
- ▶ 3. Коагулопатии и тромбоцитопения повышают риск развития геморагических осложнений, связанных с ЛП. В этих случаях, для безопасного проведения ЛП ей должна предшествовать коррекция факторов свертывания крови.

- ▶ В лабораторию ЦСЖ должна быть доставлена с стерильных пробирках немедленно после пункции.
- ▶ Для предотвращения образования сгустка фибрина взятие ЦСЖ необходимо проводить с ЭДТА.
- ▶ Количество ЦСЖ, извлекаемое без вреда для больного 8-10 мл.
- ▶ Подсчет клеток в камере и приготовление осадка необходимо выполнить в течение 30 минут после пункции.

ЦСЖ берут в несколько пробирок в зависимости от назначений:

► Пробирка на биохимическое исследование

Определение галогенов, катионов, анионов, тяжелых металлов, хлоридов, калия, натрия, кальция, магния, фосфора, сахара, альбуминов, глобулинов, гликогена, молочной кислоты, мочевины, аммиака, мочевой кислоты, аминокислот, креатина, креатинина, липидов, остаточного азота, гормонов, витаминов, медиаторов)

► Пробирка на клиническое исследование

► Пробирка на иммунологическое исследование

(Обнаружение маркеров опухолей (бетахориогонадотропина человека (БХГЧ), карциноэмбрионального антигена (КЭА) и альфа-фетопротеина (АФП). **Различных ИММУНОГЛОБУЛИНОВ** (Рассеянный склероз в 70% случаев сопровождается наличием в ликворе олигоклональных антител.)

► Пробирка на бактериологическое исследование

(Исследование на аэробные и анаэробные микробы, грибки; выявление кислотоустойчивых форм; посеvy обнаруженных культур).

Клиническое исследование ЦСЖ включает определение:

- ▶ Цвета
- ▶ Прозрачности
- ▶ Относительной плотности
- ▶ Содержания белка
- ▶ Глобулиновых реакций (Панди и Нонне-Апельта)
- ▶ Подсчет количества клеток (цитоз)
- ▶ Подсчет цитограммы (процентное содержание лимфоцитов и нейтрофилов)

Показатели цереброспинальной жидкости в норме:

- ▶ **Бесцветная**
- ▶ **Прозрачная**
- ▶ **Относительная плотность 1,006-1,007**
- ▶ **Содержание белка 0,220-0,330 г/л**
- ▶ **Глобулиновые реакции:**
 - Панди – отрицательная
 - Нонне-Апельта - отрицательная
- ▶ **Содержание глюкозы : 2.8-3.9 ммоль/л**
- ▶ **Содержание хлоридов: 120-130 ммоль/л**
- ▶ **Цитоз до 4 клеток в мкл**
- ▶ **Цитограмма 80-85% лимфоцитов 3-5 % нейтрофилов**

Цвет

- ▶ В норме ЦСЖ бесцветна (как дистиллированная вода, по сравнению с которой и описывают обычно физические свойства ликвора).
- ▶ Сероватый или серо-зеленый цвет ликвора обычно обусловлен примесью микробов и лейкоцитов.
- ▶ Реже встречается зеленоватый цвет СМЖ (гнойный менингит, абсцесс мозга).
- ▶ В литературе описан и корчневый цвет ликвора – при прорыве кисты краниофарингиомы в ликворные пути.
- ▶ Красный цвет СМЖ различной интенсивности (эритрохромия) обусловлен примесью эритроцитов, встречающихся при свежих кровоизлияниях или травме мозга.
- ▶ Визуально присутствие эритроцитов обнаруживается при их содержании более 500-600 в мкл.
- ▶ Если примесь крови произошла случайно - при пункции, этот факт можно определить путем центрифугирования, в результате которого надосадочная фракция должна стать прозрачной.

Ксантохромия ЦСЖ

- ▶ Это желтый или желто-коричневый цвет ЦСЖ.
- ▶ Встречается при застойных и геморрагических патологических процессах .
- ▶ Застойная ксантохромия – результат замедления тока крови в сосудах мозга, что приводит к поступлению плазмы в ЦСЖ и к увеличению концентрации белка, в результате чего ЦСЖ приобретает желтую окраску (в данном случае цитоз в норме).
- ▶ Геморрагическая ксантохромия обусловлена наличием продуктов распада гемоглобина. Наблюдается при наличии несвежих субарахноидальных кровоизлияниях. При геморрагической ксантохромии цитоз увеличен, содержание белка в норме.
- ▶ Кроме того ксантохромия ЦСЖ наблюдается у больных желтухой и при приеме некоторых лекарственных препаратов (пенициллин). В последнем случае реакция на желчные пигменты отрицательная.

прозрачность

- ▶ В норме ЦСЖ прозрачна (как дистиллированная вода, по сравнению с которой и описывают это свойство).
- ▶ Мутность ликвора может быть обусловлена примесью лейкоцитов или микроорганизмов.
- ▶ Если мутность обусловлена лейкоцитами, то надосадочная фракция СМЖ после центрифугирования становится прозрачной.
- ▶ При содержании в СМЖ повышенного количества грубодисперсных белков она становится опалесцирующей (туберкулезный и сифилитический менингит).
- ▶ При повышенном содержании в ликворе фибриногена происходит образование фибринозной пленки или сгустка (чаще при туберкулезном менингите). Иногда пробирку с жидкостью оставляют при комнатной температуре на сутки (если необходимо точно установить – образовалась ли пленка?). При наличии фибринозной пленки ее переносят препаровальной иглой на предметное стекло и окрашивают по Цилю-Нильсену для выявления микобактерий.

Относительная плотность

- ▶ в норме 1,006-1,007
- ▶ ее измеряют, если позволяет доставленный объем
- ▶ уменьшение относительной плотности наблюдается при гиперпродукции ЦСЖ, снижении в нем концентрации солей и белка
- ▶ Повышение наблюдается при воспалительных процессах мозговых оболочек – до 1,015

Определение белка

- ▶ Пробы на белок могут быть качественными (Пади, Нонне-Апельта) и количественными (концентрация в г/л).
- ▶ Более 80% белка СМЖ поступает из плазмы путем ультрафильтрации.
- ▶ Для определения концентрации белка в СМЖ может использоваться любой из унифицированных методов (например с сульфосалициловой кислотой). Перед исследованием СМЖ центрифугируют.
- ▶ Повышенное содержание белка в СМЖ (гиперпротеинария) может быть обусловлено различными патогенетическими факторами (бактериальные и вирусные менингиты, энцефалиты, полиомиелит, опухоли мозга, геморрагический инсульт, абсцесс мозга).

Качественная реакция Панди

- ▶ Ставится перед количественным определением белка методом с сульфосалициловой кислотой.
- ▶ Метод выявления повышенного содержания глобулинов в цереброспинальной жидкости, основанный на появлении в этом случае помутнения при смешивании ее с 10-12% раствором карболовой кислоты.
- ▶ 100 г карболовой кислоты растворяют в 1 л воды, встряхивают и оставляют в термостате при 37 °С на 6—8 ч. После пребывания при комнатной температуре в течение 7 дней надосадочную жидкость сливают и используют в качестве реактива.
- ▶ На часовое стекло, положенное на черную бумагу, наливают 1 мл реактива и по краю наносят 1—2 капли ликвора. В случае положительного результата в месте соприкосновения реактива с используемой спинномозговой жидкостью образуется молочно-белое облачко, переходящее в муть.

Оценка реакции Панди

1+ слабая опалесценция

2+ заметная опалесценция

3+ умеренное помутнение

4+ значительное помутнение

Реакция Нонне-Апельта

- ▶ Ставится параллельно с реакцией Панди.
- ▶ Метод выявления глобулинов в ЦСЖ, основанный на ее помутнении при смешивании с насыщенным раствором сульфата аммония.
- ▶ Насыщенный раствор аммония сульфата готовят следующим образом: в колбу емкостью 1000 мл помещают 0,5 г химически чистого нейтрального аммония сульфата, затем наливают 100 мл дистиллированной воды, подогретой до 95 °С, взбалтывают до полного растворения соли и оставляют на несколько дней при комнатной температуре. Спустя 2-3 дня раствор фильтруют и определяют рН - реакция должна быть нейтральной.
- ▶ В пробирку наливают 0,5-1 мл полученного раствора и осторожно по стенке пробирки добавляют такое же количество ЦСЖ. Через 3 мин оценивают результат. Появление беловатого кольца свидетельствует о положительной реакции. Затем содержимое пробирки взбалтывают, определяют степень помутнения, сравнивая с пробиркой, содержащей дистиллированную воду. Результаты реакции оценивают на фоне черной бумаги.

- ▶ Наиболее достоверное представление о содержании глобулинов дает электрофорез СМЖ, который желательно проводить при положительных глобулиновых реакциях.
- ▶ Увеличение фракции альфа-глобулинов говорит об остром воспалении.
- ▶ Увеличение содержания фракции бета- и гамма-глобулинов – о хроническом воспалении.

Глюкоза в ЦСЖ

- ▶ Глюкоза содержится в нормальной ЦСЖ в концентрации 2.00-4.18 ммоль/л. Эта величина подвержена значительным колебаниям даже у здорового человека в зависимости от пищевого режима, физической нагрузки, других факторов.
- ▶ Для корректной оценки уровня глюкозы в ликворе рекомендуется одновременно определять ее уровень и в крови, где в норме он в 2 раза выше.
- ▶ Повышенное содержание уровня глюкозы в ЦСЖ (гипергликоархия) встречается при сахарном диабете, остром энцефалите, ишемических нарушениях кровообращения и других заболеваниях.
- ▶ Гипогликоархия отмечается при менингитах различной этиологии или асептическом воспалении, опухолевом поражении мозга и оболочек, реже – при герпетической инфекции, субарахноидальном кровоизлиянии. Это связано с гликолитической активностью микробов, опухолевых клеток и лейкоцитов.

Хлориды в ЦСЖ

- ▶ Содержание в нормальном ликворе - 120-130 ммоль/л.
- ▶ При воспалительных процессах снижение хлоридов идет параллельно снижению глюкозы.
- ▶ Значительное снижение хлоридов является неблагоприятным признаком.
- ▶ Увеличение концентрации в СМЖ наблюдается при нарушении их выведения из организма (заболевания почек, сердца).

Микроскопическое исследование ЦСЖ

- ▶ Подсчет клеточных элементов в ЦСЖ (определение цитоза) производят с помощью камеры Фукс-Розенталя, предварительно разводя ее реактивом Самсона в 10 раз.
- ▶ Использование именно данного красителя, а не какого-либо иного, позволяет окрашивать клетки в течение 15 мин и сохранять их неизменными до 2 часов.
- ▶ Реактивом Самсона - ледяная уксусная кислота 5 мл, дистиллированная вода до 50 мл, метиловый фиолетовый 0,1 мл.

- ▶ Нормоцитоз – нормальное содержание клеток в ЦСЖ (до 4 в мкл).
- ▶ Плеоцитоз – повышенное содержание клеток в ЦСЖ.

Техника подсчета клеток в камере Фукса-Розенталя

- ▶ ЦСЖ смешиваем с реактивом в соотношении 10:1 (10 капель ЦСЖ и 1 капля реактива) и заполняем камеру.
- ▶ Камера Фукса-Розенталя состоит из 16 больших квадратов, каждый из которых разделен на 16 малых, всего 256 квадратов. Глубина камеры 0,2 мм, общий объем камеры 3,2 мкл.
- ▶ Подсчитываем количество клеток 256 квадратах.

Формула пересчета

$$\frac{A}{3}$$

где **A** — число лейкоцитов в 256 квадратах камеры Фукса-Розенталя

То есть количество всех подсчитанных клеток делим на 3, так как нам нужно узнать цитоз в 1 мкл, а объем камеры в 3 раза больше.

Подсчет в камере Горяева

- ▶ Считаем количество клеток во всей камере, то есть в 225 больших квадратах.
- ▶ Объем 225 больших квадратов камеры Горяева равен 0,9 мкл (примерно в 3 раза < чем объем камеры Фукса-Розенталя).
- ▶ Поэтому, чтобы оценить примерно тот же объем ЦСЖ, что и в камере Фукса-Розенталя, нам надо подсчитать 3 камеры Горяева.

Например:

В 1-ой камере подсчитали 15 клеток

Во 2-ой – 11 клеток

В 3-ей - 18 клеток

Всего 44 клетки

Находим среднее на 1 камеру: $44:3 = 14,6$
 ≈ 15 клеток

Формула пересчета

$$A \times 1,2$$

где **A** – среднее
количество лейкоцитов
в 3 камерах Горяева

В 1-ой камере подсчитали 15 клеток

Во 2-ой – 11 клеток

В 3-ей - 18 клеток

Всего 44 клетки

Находим среднее на 1 камеру: $44:3 = 14,6 \approx 15$
клеток

В нашем примере $15 \times 1,2 = 18$ клеток в 1 мкл

Дифференциация клеточных элементов в счетной камере

- ▶ Можно дифференцировать почти все клеточные элементы.
- ▶ Реактив окрашивает ядра клеток в красновато-фиолетовый цвет, цитоплазма остается бесцветной.
- ▶ При подсчете обращают внимание на величину клеток, форму и расположение ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение, наличие включений в цитоплазме.
- ▶ Результат выдают в % - % нейтрофилов и % лимфоцитов.
- ▶ В норме преобладают лимфоциты.

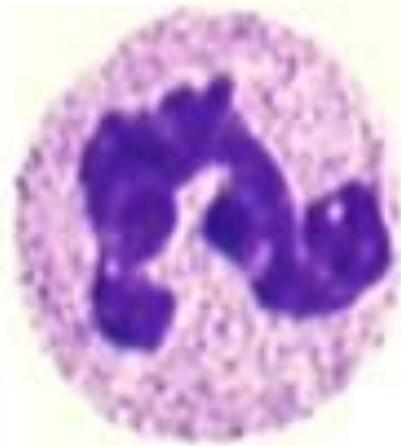
Дифференцировка клеток в окрашенном мазке

- ▶ Проводится если есть затруднения при дифференцировке в камере.
- ▶ ЦСЖ центрифугируем и из осадка делаем 2-3 препарата.
- ▶ Высушиваем.
- ▶ Фиксируем в течение 1 минуты 95% этиловым спиртом.
- ▶ Красим по Романовскому не более 10 секунд.
- ▶ Клеточные элементы представлены чаще – лимфоцитами и нейтрофилами, реже - моноцитами, эозинофилами, базофилами, могут встретиться плазматические и тучные клетки, макрофаги, могут встретиться клетки арахноэндотелия.

Таблица 3. Клеточный состав ликвора при различных патологических состояниях

Клинические ситуации	Цитоз	Клетки
Норма	0 – 5	лф
Бактериальный (гнойный) менингит	> 500	нф
Криптококковый менингит	50 – 100	нф, лф
Вирусный менингит	до 500	лф
Туберкулезный менингит (острая стадия)	> 100	нф
Энцефалит	до 500	лф
Полиомиелит	до 500	лф
Опухоль мозга	10 – 80	лф
Ишемический инсульт	10 – 200	
Геморрагический инсульт		клетки крови
Нейросифилис	10 – 100	лф
Рассеянный склероз	3 – 50	лф
Туберкулезный менингит	50 – 500	лф

Примечание: лф – лимфоциты, нф – нейтрофилы



нейтрофил

Нейтрофильный лейкоцитоз чаще сопровождает острую инфекцию (локальные и диффузные менингиты).

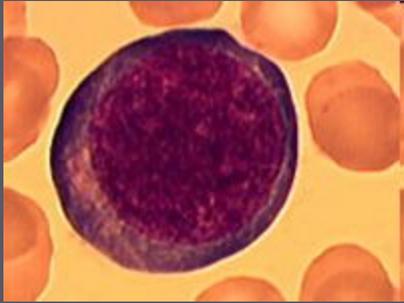


Эозинофилия ЦСЖ
наблюдается достаточно
редко – при эхинококкозе
мозга, эозинофильном
менингите. Эозинофилия
ЦСЖ не коррелирует, как
правило, с числом
эозинофилов в крови.



лимфоцит

- ▶ Лимфоцитарный плеоцитоз встречается при вирусных менингитах, рассеянном склерозе, в хронической фазе туберкулезного менингита, после операций на оболочках мозга.
- ▶ При патологических процессах со стороны ЦНС отмечается полиморфизм лимфоцитов, среди которых встречаются активированные. Для них характерно наличие обильной бледноватой цитоплазмы с единичными азурофильными гранулами, некоторые клетки имеют отшнуровку или фрагментацию цитоплазмы (клязматоз).

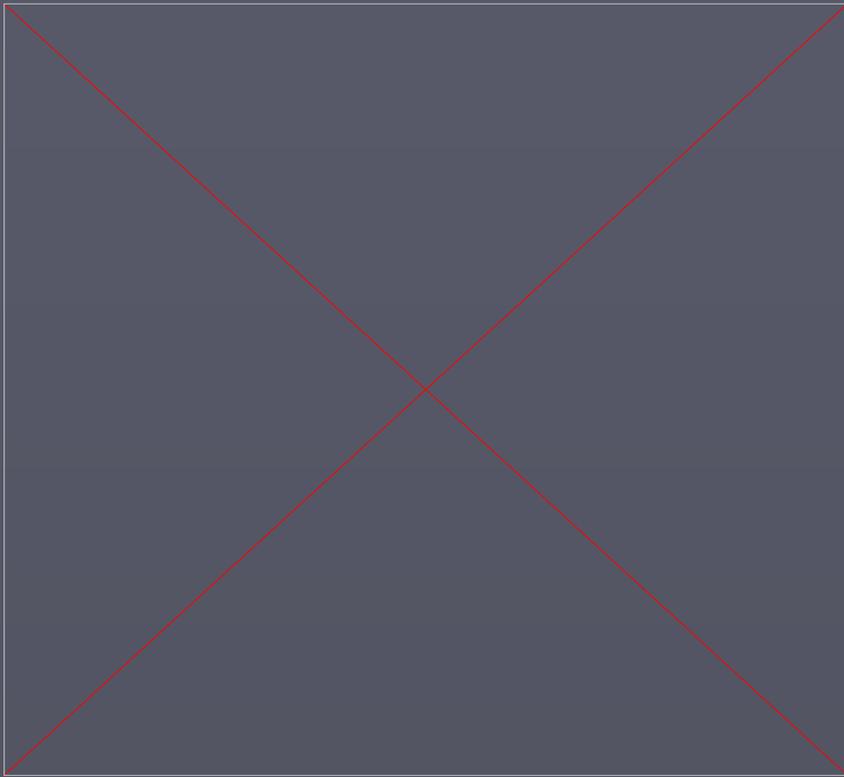


Плазматические клетки
появляются в
цитограмме при
вирусном или
бактериальном менингите,
Вялотекущих
воспалительных процессах,
в период выздоровления
при нейросифилисе.

МОНОЦИТ

МОНОЦИТ

Моноциты,
подвергающиеся в ЦСЖ
дегенерации быстрее
лимфоцитов, наблюдаются
при рассеянном склерозе,
Прогрессирующем
панэнцефалите,
хронических вялотекущих
воспалительных процессах.



Макрофаги –
“санитары” ликвора,
появляются при
кровоизлияниях,
инфекциях,
травматических и
ишемических некрозах.

- ▶ При анализе состава ликвора важно оценивать соотношение белка и клеточных элементов (диссоциацию).
- ▶ При клеточно-белковой диссоциации отмечается выраженный плеоцитоз при нормальном или незначительно увеличенном содержании белка (менингиты).
- ▶ Белково-клеточная диссоциация характеризуется гиперпротеинарией при нормальном цитозе (застойные процессы в ликворных путях (опухоль, арахноидит и др.)).