МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

О. И. Залюбовская, О.Н. Литвинова, И.В. Киреев, В.В. Зленко, Л.В. Карабут

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА**

**КУРС ЛЕКЦИЙ**

Харьков

Издательство НФаУ

2008 г.

УДК: 616.15 (042)

***Рекомендовано ЦМК Национального фармацевтического университета (протокол №)***

Рецензенты: директор Львовского медицинского колледжа, заслуженный врач Украины, доктор медицинских наук, профессор, М.Б. Шегедын; заведующий кафедрой терапии Харьковской медицинской академии последипломного образования, доктор медицинских наук, профессор И.Г. Березняков

Залюбовская О.И., Литвинова О.Н., Киреев И.В., Зленко В.В., Карабут Л.В.

Клиническая лабораторная диагностика: Курс лекций для студентов фармацевтических и медицинских вузов. – Х: Изд-во НФаУ, 2008.

В лекциях отражены основные теоретические и клинические вопросы по физиологии и патофизиологии крови и системы кроветворения, представлены данные о развитии клеток крови, их функциональных и морфологических особенностях и свойствах. Рассмотрены нормальные и нарушенные механизмы гемостаза.

Для студентов фармацевтических и медицинских вузов.

УДК: 616.15 (042)

Залюбовская О.И.,

Литвинова О.Н.,

Киреев И.В.,

Зленко В.В.,

Карабут Л.В.

НФаУ, 2008

**СОДЕРЖАНИЕ**

Предисловие

**ЛЕКЦИЯ 1.** ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

1. Клиническая лабораторная диагностика в медицинских учреждениях. Определения, понятия. Задачи. Основные направления развития.

1.1. Организация лабораторной службы.

1.2. Организация труда персонала лаборатории.

1.2.1. Персонал лаборатории.

1.2.2. Обязанности лаборанта, права. Оценка работы лаборанта.

1.2.3. Помещение лаборатории.

1.2.4. Санитарно-противоэпидемический режим в клинико-диагностической лаборатории.

1.2.5. Охрана труда и техника безопасности.

1.2.6. Виды документации в лаборатории.

2. Подготовка больного к общеклиническим исследованиям.

3. Этапы проведения лабораторного исследования в клинико-диагностической лаборатории.

4. Правила медицинской этики и деонтологии.

5. Автоматизация диагностических лабораторий.

**ЛЕКЦИЯ 2.** УЧЕНИЕ О КРОВЕТВОРЕНИИ. ЭРИТРОПОЭЗ.

1. Гемопоэз. Определение и практическое значение.

1.1. Гемопоэз у эмбриона и плода.

1.2. Определение системы крови и ее функции.

2. Нормальное кроветворение.

2.1. Воспроизводство эритроцитов.

2.1.1. Теория и схема кроветворения.

3. Структура и функции эритроцитов.

4. Структура и функции гемоглобина.

4.1. Биосинтез гемоглобина.

4.2. Транспорт кислорода гемоглобином.

4.3. Роль эритроцитов и Нв в транспорте двуокиси углерода.

5. Нормальное разрушение эритроцитов.

6. Клиническая оценка показателей красной крови.

7. Специфические факторы (витамины) эритропоэза.

**ЛЕКЦИЯ 3.** ТЕОРИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ. ЛЕЙКОПОЭЗ. ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ. АГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ. ФУНКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ.

1. Теория кроветворения. Лейкопоэз.

2. Физиологическая рекуляция лейкопоэза.

2.1 Длительность жизни лейкоцитов in vitro .

2.2. Некоторые факторы, влияющие на перераспределение лейкоцитов.

3. Структура и функции лейкоцитов.

3.1. Нормальная физиология гранулоцитов.

3.2. Нормальная физиология нейтрофилов.

3.3. Нормальная физиология эозинофилов.

3.4. Нормальная физиология базофилов.

3.5. Нормальная физиология моноцитов.

3.6. Сущность фагоцитоза.

3.7. Нормальная физиология лимфоцитов.

**ЛЕКЦИЯ 4.** ПЛАЗМОЦИТОПОЭЗ. ТРОМБОЦИТОПОЭЗ. ФУНКЦИИ ТРОМБОЦИТОВ. РОЛЬ НЕРВНО-ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОЛОГИЧНСКОГО СОСТАВА КРОВИ.

1. Плазмоцитопоэз. Морфофизиология плазмоцитов.

2. Морфофизиология мегакариоцитов и тромбоцитопоэз.

2.1. Методы определения тромбоцитов.

2.2. Особенности структуры, формы, величины тромбоцитов.

3. Тромбоцитоз, тромбоцитопения. Определение понятия. Классификация. Причины.

4. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз. Сущность понятия. Компоненты системы гемостаза. Участие тромбоцитов в первичном гемостазе.

5. Роль нервно-гуморальных факторов в регуляции морфологического состава крови.

**ЛЕКЦИЯ 5.** КАЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ. ЛЕЙКОЦИТОЗ И ЛЕЙКОПЕНИЯ. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВИДОВ ЛЕЙКОЦИТОВ.

1. Морфологические изменения в эритроцитах.

1.1. Изменения величины эритроцитов

1.2. Изменение формы эритроцитов.

1.3. Изменение окраски эритроцитов.

2. Дегенеративные изменения лейкоцитов.

3. Лейкоцитоз. Сущность понятия. Возрастные изменения числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы. Причины лейкоцитоза.

4. Лейкозы. Сущность понятия. Некоторые признаки главных типов лейкозов.

5. Лейкоцитарная формула в норме и при патологии.

5.1. Нейтрофилия. Основные причины и клинические формы.

5.2. Эозинофилия. Основные причины и клинические формы.

5.3. Базофилия. Сущность и причины.

5.4. Моноцитоз. Причины и клинические формы.

5.5. Лимфоцитоз. Основные причины и клинические формы.

6. Лейкопения. Сущность понятия. Основные причины лейкопении.

6.1. Нейтропения. Основные причины и клинические формы.

6.2. Агранулоцитоз. Сущность понятия. Виды.

6.3. Лимфоцитопения. Определение, основные причины.

6.4. Эозинопения и моноцитопения. Определение и основные причины.

7. Клинические следствия изменения количества лейкоцитов.

**ЛЕКЦИЯ 6.** ЛЕЙКЕМОИДНЫЕ РЕАКЦИИ. КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАКТОВКА ОТДЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОГРАММЫ. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

1. Лейкемоидные реакции. Сущность понятия. Фазы течения. Классификация.

1.1. Лейкемоидные реакции лимфатического и моноцитарно-лимфатического типа

1.2. Лейкемоидные реакции миелоидного типа

1.3 Лейкемоидные реакции эозинофильного типа

2. Гематокрит. Определения понятия. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением гематокрита.

3. Средний объем эритроцитов. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя.

4. Среднее содержание гемоглобина в эритроците. Сущность понятия.

5. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя.

6. Показатель распределения эритроцитов по объему. Определение.

7. Цветной показатель. Определение. Гипохромия. Гиперхромия.

8. LE – клеточный феномен. Сущность понятия. Причины возникновения.

9. СОЭ. Определение. Патофизиологические механизмы.

9.1. Лабораторное определение СОЭ.

9.2. Причины повышения СОЭ.

9.2.1. Воспалительные заболевания.

9.2.2. Инфекционные заболевания.

9.2.3. Онкологические заболевания.

9.2.4. Другие причины повышения СОЭ.

9.3. Причины снижения СОЭ.

**ЛЕКЦИЯ 7.** ГЕМОСТАЗ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ ДИАТЕЗЫ. ТРОМБОЦИТОПЕНИИ. ТРОМБОЦИТОПАТИИ.

1. Нормальная физиология гемостаза.

1.1. Свертывающий каскад. Сущность. Фазы, факторы свертывания крови.

2. Противосвертывающие механизмы.

2.1. Антикоагулянты.

2.2. Фибринолиз. Сущность. Факторы, влияющие на фибринолиз.

3. Методы исследования гемостаза.

3.1.Исследования коагуляционного гемостаза.

3.2. Исследование микроциркуляторно-тромбоцитарного гемостаза

**ЛЕКЦИЯ 8** ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КОСТНОГО МОЗГА. КОСТНО-МОЗГОВЫЕ ИНДЕКСЫ И ИХ ОЦЕНКА. НОРМАЛЬНЫЕ ЛИМФОАДЕНОГРАММЫ И СПЛЕНОГРАММЫ.

1. Гемопоэз во взрослом организме.

1.1. Морфофункциональные особенности костного мозга и его роль в гемопоэзе

1.2. Структура, функции и роль селезенки в гемопоэзе.

1.3. Структура, функции лимфоузлов, их роль в гемопоэзе.

1.4. Морфофункциональные особенности тимуса и его роль в гемопоэзе.

2. Нормальная миелограмма. Сущность понятия, приготовление и окраска мазков, значение исследования.

2.1. Значение изменений миелограммы.

3. Нормальные лимфоаденограмма и спленограмма. Сущность, нормальные показатели.

ПРЕДИСЛОВИЕ

ХХ век обогатил исторический словарь многочисленными понятиями, среди которых в медицине это «клиническая лабораторная диагностика», сформировавшаяся на ниве бурно развивающихся естественнонаучных дисциплин: физики, химии, электроники и др. Она явилась следствием естественного стремления клинических дисциплин к объективизации диагностики.

Для медицины ХХI века путь развития безальтернативен: применение разнообразных объективных исследований с верификацией их диагностической информативности. Наиболее перспективным в этом направлении является оценка состояния организма на клеточном, молекулярном уровне, то есть «ин витро» диагностика. Иначе говоря, лабораторная диагностика становится и важным звеном доказательной медицины и инициатором научных исследований в различных клинических областях.

Мы являемся свидетелями и участниками качественной модернизации лабораторных технологий. Вместе с тем, возрастание «рейтинга» клинической лабораторной диагностики существенно зависит от качества преаналитического этапа исследования, который обеспечивается трудом среднего медицинского персонала.

В настоящее время правильный выбор объема лабораторных диагностических тестов и углубленное научное их толкование во многом предопределяют успех и своевременность постановки диагноза, выбор терапии, контроль за ее эффективностью.

Основное значение, в курсе лекций, придавалось наиболее широкому клиническому толкованию лабораторных тестов с углубленным патогенетическим их обоснованием.

Основное внимание мы уделили теоретической и практической гематологии: теории кроветворения, функциональной характеристике гемопоэтических клеток, классификации лейкозов, качественным изменениям и аномалиям лейкоцитов и эритроцитов, лейкемоидным реакциям, свертывающей системе крови, разнообразным нарушениям в системе гемостаза.

Несмотря на большое число достаточно авторитетных систематизированных справочных изданий, пособий для средних медицинских работников по лабораторной диагностике недостаточно.

Мы надеемся, что этот курс лекций окажется полезным студентам фармацевтических и медицинских вузов при подготовке к практическим занятиям по лабораторной диагностике.

Все критические замечания и пожелания по поводу настоящего учебного пособия будут приняты авторами с благодарностью.

**ЛЕКЦИЯ №1**

**ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

**План.**

1. Клиническая лабораторная диагностика в медицинских учреждениях. Определения, понятия. Задачи. Основные направления развития.

1.1. Организация лабораторной службы.

1.2. Организация труда персонала лаборатории.

1.2.1. Персонал лаборатории.

1.2.2. Обязанности лаборанта, права. Оценка работы лаборанта.

1.2.3. Помещение лаборатории.

1.2.4. Санитарно-противоэпидемический режим в клинико-диагностической лаборатории.

1.2.5. Охрана труда и техника безопасности.

1.2.6. Виды документации в лаборатории.

2. Подготовка больного к общеклиническим исследованиям.

3. Этапы проведения лабораторного исследования в клинико-диагностической лаборатории.

4. Правила медицинской этики и деонтологии.

5. Автоматизация диагностических лабораторий.

**1. Клиническая лабораторная диагностика в медицинских учреждениях.**

***Лабораторная диагностика*** – это раздел клинической диагностики, которая изучает и оценивает физиологическое и патологическое состояние организма, выявляет заболевание, клеточный и химический состав, биологические особенности тканей и жидкостей организма, возбудителей болезней.

Клиническая лабораторная диагностика в современной медицине занимает одно из ведущих мест в ряду объективных диагностических исследований. Отражая метаболические и клеточные процессы, лабораторные данные позволяют выявить отклонения от нормы иногда задолго до появления субъективных ощущений, клинических проявлений и видимых изменений структуры пораженных органов.

В задачи клинической лабораторной диагностики входит изучение закономерностей и установление пределов нормальных индивидуальных колебаний каждого исследуемого параметра состава биологических тканей и жидкостей; изучение закономерности взаимосвязи патологических отклонений этих параметров с конкретными формами патологии; разработка методов исследования химического и клеточного состава биологических жидкостей; разработка требований к качеству выполнения аналитических методов и средств обеспечения этих требований; установление диагностической ценности отдельных лабораторных тестов и их комбинаций, разработка оптимальных способов их применения в диагностики болезней.

В клинической медицине методы лабораторной диагностики применяют, главным образом, для установления диагноза болезни, для характеристики тяжести, периода и срока заболевания, иногда для определения его прогноза, а также для контроля за результатами лечения.

Основными направлениями в развитии лабораторной диагностике является централизация, автоматизация, унификация(стандартизация), интенсификация лабораторных исследований, что способствуют наиболее быстрому, рациональному достижению конечного результата исследования, распознанию заболевания. Дальнейшему развитию лабораторной диагностики предшествуют мероприятия по усовершенствованию системы управления лабораторной службой, контроля качества, материально-технического обеспечения лабораторных исследований. В этом процессе большую роль играет научная организация труда, унифицированная отчетная и учетная документация, активная рационализаторская деятельность, четкая работа службы ремонта аппаратуры, метрологического контроля. Особенное место среди этих мероприятий отводят повышению уровня подготовки фельдшеров-лаборантов, которые должны совершенно владеть современными, иногда очень сложными лабораторными методами исследованиями.

Основную ответственность за правильность диагноза несет клиницист. Тем не менее, его задача существенно облегчается благодаря сотрудничеству с различными диагностическими службами, среди которых лаборатория занимает важное место. Ценность взаимодействия лаборатории и лечебного учреждения определяется не только тем, насколько качественно проводятся исследования и насколько широк их спектр, но и тем, насколько верно врачи-клиницисты в своей практической работе способны интерпретировать полученные результаты.

Взаимоотношения работников лабораторных служб и врачей-клиницистов многогранны. Так, врач лечебного учреждения организовывает забор необходимого материала на исследование. Для этого он точно должен знать возможности лаборатории и использовать их в полной мере, клиницисту необходимо владеть информацией о правилах забора образца на исследование, требующих учитывать влияние времени суток, период полураспада исследуемых биологически активных веществ, влияние окружающей температуры на образец, производить своевременную отмену некоторых лекарственных препаратов перед лабораторным обследованием пациента и многое другое. В противном случае труд многих медицинских работников, включая самого лечащего врача, может привести к постановке ошибочного диагноза и оказаться пустой тратой времени и средств.

В свою очередь, сотрудники лаборатории не должны рассматривать свое участие в диагностическом процессе как механическое выполнение заказов врачей лечебного учреждения. Врачи-лаборанты и фельдшеры-лаборанты должны обладать достаточными профессиональными знаниями для консультирования клиницистов по всему спектру полученных лабораторных результатов, интерпретации обнаруженных отклонений и, при возникшей необходимости, назначения дополнительных лабораторных исследований с целью установления достоверного диагноза.

* 1. ***Организация лабораторной службы***

Расширение сферы практического применения лабораторных диагностических исследований требует такой организации аналитической службы, которая будет максимально способствовать лечебному процессу. Для этого необходимо уделять самое пристальное внимание организации этой службы на уровне отдельных больниц, целых регионов и государства в целом.

Возможности современной лабораторной диагностики характеризуются номенклатурой лабораторных исследований , то есть количеством видов исследований и числом определенных параметров в изучаемом субстрате, а также повышением их качества в связи с внедрением более точных и более специфичных методов, что увеличивает информативность лабораторных данных.

Обязательным требованием к диагностическим лабораторным исследованиям является достоверность получаемых результатов. Метод не может быть рекомендован, если не проведена оценка его надежности или аналитической пригодности. Надежность метода характеризуется его специфичностью, чувствительностью, а также правильностью и воспроизводимостью результатов исследования.

Диагностическое исследование для наиболее полного использования их лабораторной диагностической службой должны соответствовать следующим требованиям: быть доступными, эффективными и незатратными.

Доступность означает то, что анализ, представляющий интерес с клинической точки зрения (даже если его результат сложен для интерпретации) должен быть доступным для каждого клинициста. Под эффективностью подразумевается то, что результат должен приносить максимальную пользу с клинической точки зрения, выдаваться по возможности быстро и при этом быть точным и достоверным. При этом стоимость анализов должна быть, по возможности, невысокой, что позволяет осуществлять эффективное обслуживание.

В настоящее время довольно часто встречаются ситуации, когда доступное исследование бывает невостребованным по той лишь причине, что врач-клиницист не способен к интерпретации полученных результатов. Нередко врачи-клиницисты проявляют недоверие к полученным результатам, обвиняя работников лаборатории в ненадежной работе. При анализе таких ситуаций, как правило, выясняется, что врач-клиницист при получении образца не учитывал ряд факторов (влияние ранее введенных в организм лекарств, время забора материала, температурные факторы и пр.), что существенно исказило диагностическую картину.

Чтобы эффективно выдавать результаты исследований, в лабораторной службе должно быть занято большое количество сотрудников, способных быстро выполнять анализы рутинными методами на старом полуизношенном оборудовании, либо должны иметься современные автоматические анализаторы, способные заменить большую часть сотрудников.

Для эффективного обслуживания крупных клинических учреждений, имеющих подобное оборудование, немаловажное значение имеют стоимостные критерии проводимых исследований. Лабораторные службы крупных больниц, выполняющие до 1 млн. анализов в год (по качеству соответствующих мировым стандартам), должны затратить на приобретение реактивов не менее 500 000 долларов (в среднем0,5 доллара на один анализ). На сегодняшний день стоимость только реактивов, требующихся для проведения одного анализа колеблется в пределах от 10 центов до 7 долларов. Для того, чтобы обеспечить бесперебойную работу, заведующему лабораторией необходимо заблаговременно оформлять заявки на наборы и реактивы, осуществлять их предварительную оплату и контроль поставок материала, что не всегда выполнимо в силу постоянных финансовых трудностей во многих медицинских учреждениях.

Кроме того использование автоматических анализаторов связано с возможностью возникновения ряда проблем:

1. если оборудование загружено не полностью, то его стоимость не окупается;
2. если прибор выйдет из строя (а такое время от времени случается), то при отсутствии в лаборатории достаточного штата операторов, выполняющих работу рутинными методами, могут возникнуть серьезные перебои в работе лечебного учреждения.

Таким образом, закупка дорогостоящего высокопроизводительного оборудования без учета своих финансовых возможностей может привести в некоторых случаях к его простою, к использованию малоэффективных приборов и низкокачественных реактивов, что отразится на качестве исследований.

Результаты исследования пребывают в прямой зависимости от точности средств измерения медицинского назначения, проверку которых обеспечивает метрологический контроль силами Госстандарта и Метрологической службы системы здравоохранения. Различают такие виды измерений:

* механические: весы, гири, секундомеры, часы и др.;
* оптические: фотоэлектроколориметры, спектрофотометры, рефрактометры, поляриметры, флюорометры, огненные фотометры, гемоанализаторы;
* физико-химические: рН-метры, газоанализаторы и др.

Точные и правдоподобные результаты – обязательные условия выполнения лабораторных методов исследования, гарантией чего является проведение контроля их качества. Согласно методическим указаниям, которые входят в приказы Министерства здравоохранения, проводят:

* 1. междулабораторный контроль качества исследований силами государственных, областных организационно-методических и контрольных центров по лабораторному делу;
	2. внутрилабораторный контроль качества исследований, совершаемый коллективом сотрудников лаборатории.

На некоторых этапах проведения контроля качества участвует фельдшер-лаборант. На сегодня введено внутрилабораторный контроль качества большей части биохимических, некоторых общеклинических и гематологических исследований.

***1.2. Организация труда персонала лаборатории.***

Большинство лабораторий являются отделениями медицинских учреждений и организуются в соответствии с их структурой. Тип и мощность лаборатории зависят от профиля и мощности учреждения в состав которого она входит наиболее распространены лаборатории общего типа, обслуживающие многопрофильную больницу, поликлинику; они производят общеклинические, гематологические, биохимические, цитологические, микробиологические, серологические и другие исследования. В специализированных лечебно-профилактических учреждениях лаборатории проводят общие и специальные лабораторные исследования, соответствующие профилю учреждения.

Фельдшер-лаборант должен организовать свою работу так, чтобы достичь самой высокой ее продуктивности с наименьшими затратами сил и средств. Достижению поставленной цели способствуют такие основные элементы: рациональная организация рабочих мест, сокращение затрат труда за счет четкого планирования, что предусматривает последовательность, чередование разных видов и этапов работы, сведение к минимуму непродуктивно затраченного времени; специализация, повышение квалификации, усовершенствование методик; использование современного оснащения (средств механизации и автоматизации); внедрение изобретений и рационализаторских предложений, рациональных форм отчетной документации, использование электронновычислительной техники, соблюдение санитарно-гигиенических нормативов и предупреждение профессиональных заболеваний, экономное использование реактивов и электроэнергии, эстетическое оформление производственных помещений клинико-диагностических лабораторий.

***1.2.1. Персонал.***

В лаборатории работают специалисты с высшим и средним медицинским образованием, инженерно-технический и вспомогательный персонал. К работе в лабораториях допускаются в качестве лаборантов с высшим образованием биологи, окончившие университеты, химики, провизоры, в качестве медицинских лаборантов – фармацевты со средним образованием.

Необходимый штат сотрудников определяется исходя из предлагаемого количества исследований. По приблизительным подсчетам один лаборант может выполнить 10000 анализов в год или 250 анализов за рабочую неделю. Возможны, разумеется, исключения: если анализы включают трудоемкие, рутинные стадии, то пропускная способность лаборатории будет намного ниже, тогда как при автоматизации диагностического процесса она значительно увеличится. Кроме того, у лаборанта, ответственного за проведение нескольких разновидностей анализов, производительность будет ниже, чем у лаборанта, ответственного за проведение анализов одного вида.

На каждых 2-3-х лаборантов, непосредственно занятых на выполнении анализов, должен приходится один квалифицированный специалист с высшим образованием. Независимо от общего числа сотрудников лаборатория должна иметь заведующего, занятого полную или неполную рабочую неделю; последний может не иметь медицинского образования, но обязательно должен обладать хорошей общей подготовкой в области лабораторной диагностики.

Удельный вес нагрузки на персонал лаборатории по непосредственному проведению исследований составляет для врачей-лаборантов 75% рабочего времени, для лаборантов – 80%. У лаборантов в удельный вес нагрузки на проведение исследований не включается время на подготовительную работу, предварительное приготовление реактивов, выдачу результатов анализов, получение необходимых реактивов и других материалов, уход за аппаратурой, личное необходимое время и кратковременный отдых.

Затраты времени сотрудника лаборатории на взятие крови (включая регистрацию), а также регистрацию и обработку венозной крови (получение сыворотки, плазмы) даются отдельно. Время переходов (переездов) для взятия материала для исследования учитывается по фактическим затратам.

Внедрение новых методик, а также наиболее сложные и ответственные исследования выполняет врач-лаборант. Однако высококвалифицированным лаборантам может быть поручено выполнение многих видов лабораторных исследований.

Ответственным за распределением функциональных обязанностей является заведующий лабораторией. Распределение функциональных обязанностей персонала лаборатории отражается в должностных инструкциях.

Наряду с внутрилабораторной организацией труда все большее значение приобретает организация взаимоотношений лабораторий с клиническими отделениями, применение технических средств связи, упорядочение назначений анализов на основе согласованных лабораторных тестов, дифференциально-диагностических программ, проведение клинико-лабораторных конференций и т.п.

***1.2.2. Обязанности лаборанта***

Общие положения

* на должность лаборанта назначают специалиста со средним медицинским образованием, который имеет навыки выполнения лабораторных исследований;
* назначение и увольнение лаборанта со средним медицинским образованием осуществляет главный врач медицинского учреждения согласно с действующим законодательством;
* лаборант подчиняется непосредственно заведующему лаборатории, врачу-лаборанту, или старшему лаборанту, которые контролируют его работу, производственная нагрузка, согласно с которой лаборант составляет индивидуальный план работы. Руководствуясь составленным планом, он последовательно, старательно и точно выполняет задания;
* в работе лаборант пользуется должностной инструкцией и такими указами МОЗ Украины: от 16.04.75 г. № 380, от 01.04.72 г. №290, от 05.10.74 г. № 960, от 01.11.79 р. № 1175, от 23.04.85 г. № 545, от 12.07.89 г. № 408.

*Основные обязанности.Лаборант обязан:*

* готовить свое рабочее место, необходимую посуду, реактивы и красители для проведения исследований;
* помогать врачу-лаборанту в проведении всех видов анализов и самостоятельно проводить основные виды исследований (определение физико-химических свойств исследуемого материала, подсчет форменных элементов крови, постановка серологических реакций и др), принимать участие в проведении контроля качества;
* проводить определение показателей с применением аппаратуры, следить за рабочим состоянием;
* организовывать процесс работы путем группирования однотипных исследований, выполнять их в строгой последовательности, рационально использовать свое время;
* обеспечивать санитарно-протиэпидемический режим в лаборатории;
* вести установленную документацию;
* систематически работать над повышением уровня теоретических знаний и профессиональной квалификации;
* следовать правилам медицинской этики и деонтологии.

*Права. Лаборант имеет право:*

* выдвигать требования к руководителю лаборатории относительно условий работы для обеспечения четкого выполнения служебных обязанностей;
* требовать от посетителей лаборатории придерживаться правил внутреннего распорядка;
* контролировать работу младшего медицинского персонала;
* повышать свою квалификацию на рабочем месте или на курсах повышения квалификации в установленном порядке.

*Ответственность. Лаборант несет ответственность за:*

* качество и своевременность выполнения исследований;
* выполнение должностных обязанностей;
* соблюдение правил охраны труда и техники безопасности.

*Оценка работы.* Оценку работы фельдшера-лаборанта дают руководитель лаборатории, врач-лаборант, администрация лечебного учреждения, общественные организации на основании учета и объема выполненной работы, выполнения правил внутреннего режима, трудовой дисциплины, морально-этических норм. Виды персональной ответственности устанавливает закон.

***1.2.3. Помещение***

Состав помещений и их площадь определяется утвержденными строительными нормами и правилами в зависимости от количества анализов, выполняемых лабораторией в день. Для каждого сотрудника, занимающегося ежедневно обработкой образцов, нужен рабочий стол длиной 3-5 м.

Помещения лаборатории делят на основные и вспомогательные. В основных помещениях размещаются рабочие места для выполнения исследований, лабораторная техника и аппаратура. Во вспомогательных – производится регистрация, подготовка и предварительная обработка материала для исследования, мытье и сушка лабораторной посуды, приготовление реактивов, питательных сред. В крупных лабораториях выделяются отдельные помещения или рабочие места для различных групп анализов.

Для проведения лабораторных исследований в клинико-диагностической лаборатории надо иметь отдельную комнату или рабочие место для:

* забора крови;
* забора материала с пораженного участка кожи при кожных заболеваниях;
* определение физико-химических показателей крови;
* измерительных приборов;
* микроскопического исследования;
* общеклинического исследования (мочи, желудочного содержимого, желчи, мокроты, спинномозговой жидкости, серозной жидкости, выделений из половых органов);
* окрашивания препаратов;
* приготовления реактивов.

Рабочие места должны быть обеспечены всем необходимым для проведения объема работы согласно с табелем оснащения лаборатории. Количество комнат определяется объемом работы лаборатории и характером исследований, которые приводят в ней.

***1.2.4. Санитарно-протиэпидемический режим в клинико-диагностической лаборатории***

Санитарно-протиэпидемический режим – это комплекс организационных, санитарно-профилактических и протиэпидемических мероприятий, которые предотвращают возникновение внутрибольничной инфекции.

Санитарно-протиэпидемический режим включает в себя требования относительно санитарного состояния лаборатории, внутреннего оснащения, освещения, отопления, вентиляции.

Рабочие места должны быть хорошо освещены лампами дневного света.

Лаборатория должна быть обеспечена вытяжной вентиляцией, вытяжными шкафами, специальной лабораторной мебелью, посудой, аппаратурой и оборудованием.

Основными элементами комплекса мероприятий, направленных на обеспечение санитарно-гигиенического режима, является проведение дезинфекции, строгое соблюдение требований асептики и стерилизации.

В лаборатории дважды в день проводят влажную уборку с применением дезинфицирующих растворов (0,5% раствор хлорной извести, 1% раствор хлорамина), а при необходимости – текущая уборка. Один раз в неделю проводят генеральную уборку (мытье и дезинфекцию стен, пола, оснащения). Для уборки выделяют специальный маркировальный инвентарь, которой хранится отдельно. После уборки тряпки, щетки дезинфицируют в течении 1 часа в 1% растворе хлорамина.

***1.2.5. Охрана труда и техника безопасности***

Лаборант работает согласно установленному в лаборатории режиму работы. Он должен помнить о том, что исследуемый материал может быть заразным, поэтому лаборант должен работать в спецодежде, резиновых рукавицах, пользоваться пипеткам-дозаторами или резиновыми грушами. Строго придерживаться инструкций и приказов:

* на рабочем месте должно быть только то, что необходимо для проведения данного объема работы;
* хранить концентрированные кислоты, щелочи остро пахнущие, легковоспламеняющиеся и отравляющие вещества и работать с ними согласно инструкциям;
* электроприборы должны быть в рабочем состоянии, заземлены, во время пользования ими додерживаться инструкций. Если возникает поломка, вызвать мастера.

Во время работы в лаборатории необходимо придерживаться правил работы с нагревательными приборами, отравляющими и легковоспламеняющими реактивами, защищать одежду и тело от химических реактивов, особенно беречь глаза. Для этого необходимо применять такие индивидуальные средства защиты:

* медицинский халат, платок или шапочку, резиновый фартук, резиновые перчатки, защитные очки;
* в лаборатории должен быть огнетушитель, небольшой запас песка, совок;
* на всех емкостях с реактивами – этикетки с названиями реактивов;
* особенно осторожно нужно обращаться во время работы с отравляющими легковоспламеняющимися веществами, концентрированными кислотами, щелочами;
* с легковоспламеняющимися реактивами (эфир, ацетон и др.) нужно работать, далеко от огня и работающего нагревательного прибора;
* щелочи нельзя выливать в раковину концентрированные кислоты, основы, отравляющие вещества с сильным запахом, хромовую смесь и др.;
* электронагревательные приборы нужно ставить на изолированный шар (асбест, метлахские плитки);
* перед включением в сеть электронагревательных приборов необходимо проверить надежность заземления, исправность розетки, штепселя, электрошнура, при неисправности вызвать электрика. Пользоваться электрооснащением студентам разрешается только после тщательного инструктажа и под присмотром преподавателя. В случае пожара необходимо выключить электрооснащение и осуществлять мероприятия по гашению огня, а при необходимости звонить в пожарную часть;
* необходимо знать правила оказания первой медицинской помощи, лаборатория должна быть должным образом оснащена.

***1.2.6. Виды документации.Направления***

Исследуемый материал приходит в лабораторию с направлением, в котором записано:

* фамилия и имя;
* возраст (особенно ребенка), пол;
* название отделения и номер палаты или кабинета:
* вид исследования;
* диагноз;
* дата взятия материала (в некоторых случаях и время);
* кем назначен анализ.

***Бланки анализов.*** Результаты исследований оформляют на бланках анализов, образцы которых утверждены МОЗ Украины.

***Регистрационные журналы.*** Результаты исследований регистрируют в отдельные журналы установленного образца или на компьютере.

***Журналы отчетности по использованию спирта, реактивов и др., учета лабораторных исследований.***

***Журналы контроля качества чистоты лабораторной посуды, инструментов, материала от крови и моющих средств.***

***Паспорт.*** Каждая лаборатория должна иметь паспорт установленного образца:

а)

|  |
| --- |
| Название лаборатории\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Учреждение\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Адрес\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Фамилия и имя руководителя (главного врача)\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Телефоны\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Главного врача\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Заведующего лаборатории\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Фамилия и имя заведующего лаборатории\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Лабораторию создано согласно с указом №\_\_\_\_\_\_\_\_\_ от\_\_\_\_\_\_\_\_\_Дата начала работы\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Время работы\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Производственная нагрузка\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_(количество анализов за год) |

б) материально-техническая база;

в) учет выполняемых лабораторных исследований;

г) состав и квалификация персонала;

д) оснащенность средствами измерения;

е) оснащенность дополнительным оборудованием;

э) внутри- и межлабораторный контроль качества;

ж) справка о результатах внутрилабораторного контроля качества.

**2. Подготовка больного к общеклиническим исследованиям**

К проведению лабораторных исследований больных готовят средние медицинские работники стационаров и поликлиник. Для правильной подготовки больного и транспортировки материала лечебные учреждения должны быть достаточно оснащены. В кабинетах для забора материала, манипуляционных и процедурных кабинетах необходимо иметь наборы лабораторного и хозяйственного оборудования: штативы (пластиковые и металлические) для пробирок, специальные контейнеры, термосы или ящики для транспортировки. Также нужно иметь набор сухих химически чистых пробирок, в частности силиконовых или пластмасовых, с определенным количеством антикоагулянта для стабилизации крови. В практике применяют широкогорлые банки по 200 мл, большие мерные банки для собирания мочи, серозной жидкости, широкогорлые банки по 50 мл для собирания кала, стеклянные плевательницы с крышками или стерильные закрытые банки для мокроты, стерильные пробирки с пробками для всех видов бактериологических анализов. Кроме того, должно быть достаточное количество предметного стекла для взятия мазков с пунктатов или отпечатков биопсийного материала.

На результаты исследований определенное влияние имеет физиологическое состояние организма, то есть факторы, которые формируют параметры внутренней среды, или нормальные величины показателей. Поэтому нужно учитывать условия, в которых пребывает больной, и стремиться их стандартизировать: материал брать рано утром натощак в одинаковом положении тела, учитывать прием лекарственных препаратов, рентгенологические исследования и др.

* 1. **Этапы проведения лабораторных исследований в клинико-диагностической лаборатории**

1. Подготовка рабочего места.

Для каждой методики или анализа должно быть организовано рабочее место со всеми необходимыми для выполнения данного объема работы:

* + - рабочие растворы реактивов с этикетками, на которых указано название реактива;
		- штатив с пробирками, в которых находятся пипетки или пипетки-дозаторы для рабочих растворов;
		- штатив с пробирками, в которых лаборант проводит исследование;
		- предметное и покровное стекло, другое лабораторное оснащение, которые используют на подготовительном этапе;
		- инструкция по проведению данного исследования, утверждена административной особой лечебного учреждения;
		- лаборант проводит группирование однотипных исследований согласно с направлениями, маркировку исследуемого материала, направлений, лабораторной посуды, выписывает бланки анализов.

2. Выполнение лаборантом исследования согласно с инструкцией.

3. Обработка рабочего места, лабораторной посуды, лабораторного оборудования проводят согласно с указом МОЗ Украины №408.

4. Занесение результатов исследований в бланки анализов, регистрационные журналы или компьютер.

* 1. **Правила медицинской этики и деонтологии во время работы в клинико-диагностической лаборатории**

Условием успешной работы фельдшера-лаборанта является любовь к своей профессии, профессии медицинского работника. Целью его работы является помощь врачу в постановке диагноза, поэтому фельдшер-лаборант должен владеть не только профессиональными знаниями и умением по клинической лабораторной диагностики, но и вопросами медицинской этики и деонтологии.

Наука о медицинской этике – это наука о роли моральных качеств медицинского работника, о высокогуманном отношении к человеку. Основные этические нормы, которые формулировались в процессе оказания медицинской помощи больным, было обобщено и сформулировано учеными-врачами разных эпох. Так в древнеиндийской книге «Аюрведа» находим достаточно четкий портрет врача: «Он должен иметь чистое, сочувствующее сердце, спокойный темперамент, быть правдивым, выделяться знаниями и порядочностью, постоянным стремлением делать добро».

Первые научные обобщения научного опыта лечения и правил поведения возле кровати больного находим в работах Гиппократа. В «Клятве» Гиппократа четкое сформулированы обязанности врача: «Честно и добросовестно служить больному, быть искренним, удерживаться от причинения ему какого-либо вреда».

Во время общения с больным необходимо помнить, что он по складу своего мышления, глубине переживаниий, силе психоэмоционального напряжения, отношению к себе и к окружающим отличается от здорового человека. Особенно длительная болезнь для многих людей является тяжелой травмой, которая сама по себе ухудшает самочувствие, физическое состояние, а так же причиняет серьезные нарушения в психоэмоциональной сфере. Все мысли больного, который доверяет медикам свое здоровье, а иногда и жизнь, направлены на то, чтобы как можно скорее получить квалифицированную медицинскую помощь. Больной должен быть уверен в высоком профессионализме специалистов, а так же в их порядочности, доброте и сочувствии. И поэтому с древней поры общество предъявляло высокие требования к моральным качествам людей, которые занимались медицинской деятельностью.

Науку, которая занимается профессиональными обязанностями медицинских работников, называют медицинской деонтологией. Медики должны постоянно бороться за физическое и психическое здоровье человека, проводить профилактическую и санитарно-просветительную работу, хранить врачебную тайну, оказывать медицинскую помощь независимо от национальной и расовой принадлежности, политического и религиозного мировоззрения.

Основой деонтологии являются административно-регламинтирующие формы (приказы, инструкции) поведения, профессиональных обязанностей в организации лечебно-диагностического процесса. После завершения образования в медицинском университете молодые врачи дают клятву врача Украины, так называемую «Клятву Гиппократу». Выпускники медицинских училищ и колледжей дают торжественное обещание – клятву Флоренс Найтингейл.(основательницы всемирного медсестринства):

*Перед Богом и перед лицом собрания*

*я торжественно обещаю честно жить и честно выполнять свои профессиональные обязанности.*

*Я никогда сознательно не дам и не назначу лекарство, которое может причинить вред.*

*Я сделаю все, что в моих силах, чтобы поддерживать и повышать уровень моей профессии.*

*Я буду хранить в тайне всю информацию, которая оказалась в моем распоряжении*

*во время работы с пациентами их родственниками.*

*Я буду самоотверженно помогать врачу в его работе*

*и посвящу себя неусыпной заботе о*

*благополучии всех порученных моим заботам.*

Медработник должен быть собранным, спокойным, уравновешенным, не нервничать. В случае ухудшения состояния здоровья больного не паниковать. Надо помнить, что невнимательность, злость подрывают авторитет медработников. Большое значение для создания доброжелательной атмосферы в лечебном учреждении имеет внешний вид медперсонала. Спецодежда должна быть чистой и аккуратной, косметикой нужно пользоваться умеренно.

Важной обязанностью медработника является сохранение профессиональной тайны. Фельдшер-лаборант не имеет права информировать больного о результатах лабораторных исследований.

Неэтично в присутствии больного обсуждать и критиковать профессиональный уровень врачей и других медработников. В процессе работы фельдшер-лаборант общается с больными и их родственниками. Необходимо создавать благоприятный микроклимат с оптимистическим настроением. Больных необходимо ограждать от неблагоприятных сообщений, которые могут их разволновать, привести в возбужденное или угнетенное состояние. Всеми доступными средствами следует поддерживать бодрое настроение, отвлекать от мыслей о заболевании.

Основой взаимоотношений фельдшера-лаборанта и врача является субординация, означающая служебную подчиненность младшего по должности старшему. Фельдшер-лаборант должен выполнять лабораторные исследования и докладывать о результатах.

В отношениях с младшим медперсоналом фельдшер-лаборант должен быть тактичным, замечания (по надобности) делать корректно.

Для обеспечения условий по поддержанию правил деонтологии, установлению приятных отношений с больными, медработники должны иметь четкую картину его психологического состояния. Во время болезни возникает эмоциональная реакция больного на факт заболевания: страх, тревога, депрессия. Проблемы больного занимают особое место в его сознании. У людей слабовольных заболевания могут привести к развитию состояния депрессии, а у людей сильной воли – к принятию решений, направленных на борьбу с болезнью. Больной должен адекватно относится к ней, сотрудничать с медперсоналом, поставить цель – выздоровление. Поведение больного необходимо подчинять достижению цели лечения.

Сирийский врач Абу-ль-Фарадж говорил: «Нас трое – ты, болезнь и я. Если ты будешь с болезнью, вы будете вдвоем, а я останусь один – вы меня победите. Если ты будешь со мной, болезнь будет одна – мы ее победим»

Варианты неадекватного отношения к болезни:

1. отрицательное (игнорирование факта заболевания, влияния фактора риска);
2. недооценка важности болезни;
3. уход в болезнь;
4. ипохондрическое отношение (неоправданный страх за состояние здоровья и жизни);
5. утилитарное (получение выгоды от болезни, материальной или моральной);

Отрицательное влияние на психику, эмоции и поведение больного могут оказывать больничная обстановка, особенно если нарушен гигиеничный или больничный режим, нарушение норм этики и эстетики. Пациент из разных источников может получить информацию о своей болезни, что часто его дезинформирует, становиться причиной сомнений относительно правильности лечения. Во время госпитализации необходимо учитывать совместимость пациентов. Нарушить психологический покой больного может ятрогения – его болезненное состояние, обусловленное деятельностью медработников. Отвечая на вопросы больного относительно его недомогания, медработник должен помнить, что ответы могут привести к развитию фобий (например, канцерофобий – страха заболеть раком). Документы, которые отражают результаты лабораторных исследований , должны быть недоступны больным.

Фельдшер-лаборант работает в лечебных учреждениях, в которых обследуют и лечат пациентов разного возраста, поэтому он должен знать особенности характера, психики, темперамента. Больничная обстановка негативно влияет на психику, эмоции и поведение людей разного возраста, особенно ребенка. В условиях стационара дети чувствуют себя одинокими среди незнакомых людей, страдают от нехватки внимания, ласки. Дети не умеют формулировать жалобы. На отдельные симптомы (болевой), вид крови они реагируют достаточно бурно. У детей дошкольного возраста отсутствует осознание болезни в целом. Даже при легком течении болезни у детей появляются симптомы раздражительности и т. п. В период болезни ярко проявляются недостатки в воспитании ребенка, его эгоизм, несдержанность, привередливость, требовательность относительно удовлетворения своих пожеланий. Это объясняется тем, что у больного ребенка ослабевают тормозные процессы в коре головного мозга, развивается эмоциональная нестойкость, несдержанность в поведении, слабый контроль разума над чувствами. Обычно на помощь детям приходят родители и медперсонал. У большинства детей одной из причин отрицательных эмоциональных реакций является чувство страха перед возможной болью и непонятными им медицинскими манипуляциями. Необходимо помочь ребенку преодолеть страх.

Во время работы с пациентами старшего возраста фельдшеру-лаборанту нужно учитывать их возрастные особенности. Психологической доминантой данной категории больных является осознание приближения смерти, проходящей жизни. Люди старшего возраста особенно чувствительны к наименьшим недостаткам в работе медперсонала, очень впечатлительные, ценят доброту, нуждаются во внимании к себе. Необходимо помнить, что в таком возрасте пониженные физиологические функции организма: зрение, слух, ухудшается память, сужаются жизненные интересы. У них часто отсутствует мотивация выздоровления, причиной неизлечимости болезни является возраст.

Чувство тревоги и страха возникают у больных перед незнакомыми процедурами. Накануне процедуры больного необходимо убедить в необходимости ее проведения. Манипуляции необходимо проводить в условиях относительного комфорта в назначенный день и час, нельзя откладывать их, потому что больной к ним готовился. Отрицательное влияние на больного оказывают окровавленные инструменты, тампоны, ватные шарики, поэтому их надо своевременно убирать.

Общество традиционно выдвигало высокие требования к морали медицинских работников. Профессиональная этика учит их усваивать нормы соответственного отношения к пациентам и друг к другу. Одной из особенностей медицинской профессии является то, что деятельность медицинского работника регламентируется юридически.

**5. Автоматизация диагностических лабораторий**

В настоящее время ни одна хорошо организованная и эффективная лаборатория не может обойтись без компьютерной базы и информационных систем. Важной составляющей лабораторной информационной системы является система обработки данных, так как помимо сбора, хранения и обработки полученных результатов необходима их грамотная интерпретация.

Лабораторная информационная система, как правило, выполняется в среде Windows. Она представляет собой персональный компьютер, сопряженный с одним или несколькими анализаторами, в результате чего образуется автоматизированная мини-лаборатория.

В крупных лабораториях, помимо вышеуказанной компьютерной сети, организуются станции приема материала для анализов, место для просмотра и интерпретации полученных результатов, головной компьютер для сбора информации и ее контроля.

Компьютерная операционная система значительно улучшает обслуживание пациентов, так как значительно уменьшаются или исключаются ошибки в выдаче результатов анализов. Кроме того, при сопряжении с компьютером автоматических и полуавтоматических анализаторов значительно сокращается время обработки и получения результатов анализов, существенно повышается их качество. Любое дополнительное исследование автоматически включается в каждый аналитический отчет, который может быть отправлен лечащему врачу или пациенту по факсу или электронной почте. И, наконец, использование операционной системы может существенно снизить стоимость лабораторных исследований, что является немаловажным в условиях финансирования отечественного здравоохранения.

Удачно выбранная операционная система должна предусматривать возможность увеличения мощности для удовлетворения возрастающих потребностей в проведении лабораторных исследований, она должна быть наиболее проста для использования и обслуживания персоналом лаборатории. Идеальным условием можно считать, когда в компьютерной операционной системе предусматривается возможность удаленного управления.

**ЛЕКЦИЯ №2**

**УЧЕНИЕ О КРОВЕТВОРЕНИИ. ЭРИТРОПОЭЗ**

**План.**

1. Гемопоэз. Определение и практическое значение.

1.1. Гемопоэз у эмбриона и плода.

1.2. Определение системы крови и ее функции.

2. Нормальное кроветворение.

2.1. Воспроизводство эритроцитов.

2.1.1. Теория и схема кроветворения.

3. Структура и функции эритроцитов.

4. Структура и функции гемоглобина.

4.1. Биосинтез гемоглобина.

4.2. Транспорт кислорода гемоглобином.

4.3. Роль эритроцитов и Нв в транспорте двуокиси углерода.

5. Нормальное разрушение эритроцитов.

6. Клиническая оценка показателей красной крови.

7. Специфические факторы (витамины) эритропоэза.

1. **Гемопоэз. Определение и практическое значение**

Учение о кроветворении имеет для занимающихся гематологией большое значение. Трудно переоценить и практическое значение теории кроветворения для клиники и лаборатории – без знания генеза кровяных клеток немыслимо было бы разобраться в сущности заболеваний системы крови, так же как было бы невозможно точно определить природу участвующих в патологических процессах кровяных элементов.

Высшей ступенью эволюционного развития красных кровяных клеток являются безъядерные эритроциты, что наблюдается у большинства позвоночных и приводит к максимальному использованию всей поверхности эритроцитов для поглощения кислорода.

Что касается белой крови, то и здесь отмечается эволюция от низших форм к высшим – от амебоцитов внутренней среды у беспозвоночных до сложного и весьма дифференцированного лейкоцитарного состава крови у позвоночных.

* 1. **Гемопоэз у эмбриона и плода**

*Первое образование крови* у зародыша происходит в *желточном мешке* из клеток мезенхимы одновременно с развитием сосудов. Это – первый, так называемый ангиобластический период кроветворения. Кровяные островки окружают со всех сторон развивающийся зародыш.

Как выяснено, в мезенхиме зародыша, а также во внеэмбриональной мезенхиме у высших позвоночных и у человека из подвижных мезенхимных клеток очень рано (очевидно, в связи с тем, что мезенхима раньше всех других тканей принимает участие в обмене веществ) обособляются зачатки кровяной ткани, или кровяные гистиобласты (мезобласты) и гемоцитобласты. В кровяных островках мезенхимы клетки, округляясь или высвобождаясь из синцитиальной связи, преобразуются в первичные кровяные клетки. Клетки, ограничивающие кровяные островки, становятся плоскими пластинками и, соединяясь наподобие эпителиальных клеток, образуют стенку будущего сосуда. Эти уплощенные клетки получили название эндотелиальных клеток.

В кровяных островках найдены также предшественники тромбоцитов, мегакариоциты, которые тоже происходят от мезобластов.

После образования первых кровеносных сосудов мезенхима уже состоит из двух частей: кровеносного русла с жидким содержимым, в котором взвешены свободные кровяные клетки, и окружающий мезенхимы синцитиального строения, в которой также имеются подвижные клетки.

Первичные гемогистиобласты (мезобласты), дифференцирующие в кровяных островках, представляют собой довольно крупные клетки округлой формы с базофильной цитоплазмой и ядром, в котором хорошо заметные крупные глыбки хроматина. Эти клетки совершают амебоидные движения. Первичные кровяные клетки усиленно размножаются митотически, и значительное большинство их превращается в первичные эритробласты – мегалобласты.

Количество первичных эритробластов, продолжающих размножаться митотически, все время увеличивается, но одновременно с размножением нарастает пиктонизация ядра и первичные эритробласты, теряя ядро, превращаются в первичные крупные эритроциты – мегалоциты.

Однако некоторая часть первичных клеток остается в недиффиренцированном состоянии и дает начало гемоцитобластам – родоначальным элементам всех последующих кровяных клеток.

Из гемоцитобластов еще в сосудах желточного поля развиваются вторичные (окончательные) эритробласты, которые впоследствии синтезируют гемоглобин и становятся окончательными, или вторичными, нормобластами. В кровяных островках формируются сосудистые каналы, объединяющиеся в конечном счете в сеть кровеносных сосудов. Эта сеть примитивных кровеносных сосудов на ранних этапах содержит первичные эритробласты и гемоцитобласты,а на более поздних – зрелые эритробласты и эритроциты.

Развитие эритроцитов в раннем эмбриональной периоде характеризуется тем, что оно протекает внутри образующихся сосудов. Гранулоциты образуются из гемобластов, располагающихся вокруг, сосудов. На этом заканчивается *ангиобластический* период кроветворения. Желточный мешок на 4 – 5-й неделе подвергается атрофии и кроветворная функция сосудов постепенно прекращается.

С этого времени начинается собственно *эмбриональное кроветворение*: местом образования эритроцитов и лейкоцитов становятся печень, костный мозг, лимфатические узлы.

У созревающего эмбриона и в дальнейшей постнатальной жизни развитие гемоцитобластов и эритробластов из эндотелия сосудов уже не происходит. Кровообразование имеет место в ретикулярной адвентиции, где гистиоциты превращаются в эритробласты.

***Эмбриональная мезенхима.*** Дополнительную роль в раннем эмбриональном гемопоэзе непосредственно в полости тела играют первичные мезенхимные клетки, особенно в районе передней прекардиальной мезенхимы. Малая часть мезенхимных клеток развивается в эритробласты, мегакариоциты, гранулоциты и фагоцитирующие клетки, аналогичные соответствующим клеткам взрослых. Количество этих клеток невелико, и больших разрастаний клеток крови, подобных кроветворным островкам желточного мешка, в мезенхиме полости тела не формируется. Стволовые клетки, располагающиеся среди этих гемопоэтических клеток (вне желточного мешка), вероятно, играют главную роль в генерации последующих поколений гемопоэтических клеток у плода и в постнатальном периоде, хотя относительный вклад первичных стволовых клеток, находящихся в желточном мешке и вне его, в более поздний гемопоэз пока не ясен.

*Кроветворение в печени*. У эмбриона (приблизительно 3 – 4-й неделе жизни) закладывается печень путем всасывания железистого эпителия двенадцатиперстной кишки в мезенхимную ткань.

У человека, начиная примерно со стадии 12 мм эмбриона (возраст 6 нед), гемопоэз постепенно перемещается в печень. Печень скоро становится основным местом гемопоэза и является активной в этом отношении до момента рождения. Поскольку эндотермальные тяжи печени формируются в поперечные перегородки, они сталкиваются с блуждающими мезенхимными клетками с морфологией лимфоцитов. Эти маленькие круглые лимфоидные клетки, называемые лимфоцитоидными блуждающими клетками, в последствии улавливаются между первичными печеночными эндотермальными тяжами и эндотелиальными клетками врастающих капилляров. Они образуют гемоцитобласты, подобные таковым в желточном мешке. Эти гемоцитобласты вскоре формируют очаги гемопоэза, аналогичные кровяным островкам желточного мешка, где вторичные эритробласты образуются в больших количествах. Вторичные эритробласты впоследствии делятся и дифференцируются в зрелые эритроциты, при этом происходят активация синтеза гемоглобина и потеря клеточного ядра. Хотя зрелые эритроциты обнаруживаются в печени эмбриона уже в возрасте 6 нед, в значимом количестве они появляются в циркуляции гораздо позднее. Таким образом, к четвертому месяцу жизни плода большинство циркулирующих эритроцитов представлено вторичными зрелыми формами. Мегакариоциты также, вероятно, образуются из гемоцитобластов в печени эмбриона и плода. В эмбриональной печени находят гранулоцитарные клетки, но развиваются они, видимо, не из гемоцитобластов, а непосредственно из блуждающих лимфоцитоидных клеток.

У человека кроветворение в печени прекращается обычно к концу внутриутробного периода, и тогда костный мозг остается единственным органом, где происходит эритро- и миелопоэз. На 5-м месяце внутриутробной жизни в связи с накоплением в печени плода гемопоэтических веществ, поступающих из материнского организма, мегалобластическое кроветворение окончательно сменяется нормобластическим.

*Кроветворение в костном мозгу.* В конце 3-го месяца жизни эмбриона закладываются одновременно костный мозг и селезенка.

*Эмбриональный костный мозг и миелопоэз.* Различные кости у эмбриона образуются не одновременно. Раньше других – длинные кости добавочного скелета. Первоначально формируется хрящевая модель каждой кости. Центральное ядро диафиза впоследствии оссифицируется, и вскоре вслед за врастанием мезенхимных клеток из периоста развивается область костной резорбции. Процесс движения мезенхимных клеток сопровождается врастанием внутрь капилляров. Количество мезенхимных клеток продолжает увеличиваться за счет непрерывного притока новых клеток, а также делением тех, которые уже находятся внутри недавно сформировавшейся костномозговой полости. Они нарабатывают неклеточный материал, или матрикс, заполняющий развивающуюся полость кости. Из этих ранних костномозговых мезенхимных клеток образуются клетки, морфологически сходные с гемоцитобластами печени и желточного мешка. Аналогично последним, они дают начало мегакариоцитам и эритроидным клеткам, а также миелоидным, включая нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Эмбриональный костный мозг заметно отличается от центров более раннего развития гемопоэза тем, что образование миелоидных клеток идет здесь особенно энергично и доминирует в гемопоэзе. Процесс формирования ранних миелоидных клеток, или миелопоэз, начинается в центральной части костномозговой полости и распространяется оттуда, чтобы в конечном счете захватить всю полость кости. Эритропоэз в эмбриональном костном мозге развивается немного позже и в основном смешивается с процессом миелопоэза, так что среди большинства созревающих клеток миелоидной линии можно наблюдать малые очаги эритропоэза. После рождения у человека гемопоэз в печени прекращается, но продолжается в костном мозге всю оставшуюся жизнь.

*Лимфопоэз.* Лимфоидные элементы в организме зародышей позвоночных появляются позднее эритроцитов и гранулоцитов. Первые зачатки лимфатических узлов возникают в области шейных лимфатических мешков. В самом раннем периоде (у человеческого зародыша около 3 месяцев) образование лимфоцитов происходит следующим образом. В мезенхиме стенки лимфатического мешка начинают обособляться подвижные гемогистиобласты прямо из мезенхимного синцития. Последний преобразуется в ретикулярную кровь, в петлях которой накапливаются различные свободные элементы: гемогистиобласты, гемоцитобласты, макрофаги и лимфоциты.

На ранних стадиях развития зачатков лимфатических узлов в них наблюдается присутствие эритробластов и миелоидных элементов, однако размножение этих форм быстро подавляется образованием лимфоцитов.

Эмбриональный тимус развивается как производное третьего жаберного кармана. Тимический эпителий заполняется блуждающими мезенхимальными клетками, которые начинают быстро размножаться и деффиринцироваться в димфоциты. Одновременно в тимусе формируется незначительное количество эритроидных и миелоидных клеток, но преобладает процесс лимфопоеза. Лимфоциты образующиеся в этом органе, представляют собой особый класс лимфоцитов со специальной функцией – участие в клеточном иммунитете.

*Селезенка.* В петлях пульпы заложены крупные клетки ретикулярного происхождения. Между петлями ретикулярной ткани пульпы проходят венозные синусы с активным эндотелием. Развитие лимфатических очагов в селезенке происходит позднее: вокруг мелких артерий из адвентициальной ткани и периваскулярной мезенхимы развивается ретикулярная аденоидная ткань с большим количеством лимфоцитов в ее петлях (зачатки лимфатических фолликулов).

*Костный мозг*. Красный костный мозг составляет 50% общей массы всей костномозговой субстанции, включающей жировой костный мозг, и по всему весу соответствует примерно весу наибольшего органа человека – печени (1300 – 2000 г).

У детей в костях преобладает красный костный мозг; начиная с 7 лет в диафизах длинных костей появляется жировой костный мозг. С 20 лет кроветворный красный костный мозг ограничивается эпифизами длинных костей, короткими и губчатыми костями. В старости в связи с развитием возрастного остеосклероза красный костный мозг местами замещается желтым (жировым) костным мозгом.

*Костномозговая ткань.* Костномозговая ткань представляет собой нежно-петлистую сеть, состоящею из разветвляющихся ретикулярных клеток, анастомозирующих между собой при помощи тончайших коллагеновых фибрилл; в петлях этой сети содержатся костномозговые элементы, а также жировые клетки. Ретикулярная сеть (строма костного мозга) более выражена в жировом костном мозгу; она особенно заметна при патологических состояниях, сопровождающихся атрофией кроветворной ткани и пролиферацией элементов крови.

Очень богатая кровеносная система костного мозга является замкнутой в том смысле, что непосредственного смывания кроветворной паренхимы кровью не происходит. Это в нормальных условиях препятствует выхождению незрелых клеточных элементов в периферическую кровь.

Среди ретикулярных элементов костного мозга различают следующие формы.

1. *Недифференцированная клетка, малая лимфоидно-ретикулярная клетка*, имеющая характерную грушевидную, хвостатую или веретенообразную форму, отрываясь от ретикулярного синцития, морфологически трудно отличима от узкопротоплазменных лимфоцитов.
2. *Большая лимфоидно-ретикулярная клетка* – молодая, функционально активная клетка, встречающаяся большей частью при регенераторных процессах.
3. *Фагоцитирующая большая ретикулярная клетка* – макрофаг. Клетка эта неправильной формы, с широкой светло-голубой цитоплазмой и малым, круглым, эксцентрически расположенным ядром. Она содержит азурофильные зерна, фагоцитированные ядра, эритроциты (эритрофаг) и глыбки пигмента (пигментофаг), жировые капли (липофаг) и т. д.
4. *Костномозговая жировая клетка.* Жировая клетка, происходя из ретикулярной, может при потере ею жира возвращаться в первоначальное состояние и вновь получать свойственные ретикулярной клетки потенции, в частности и способность продуцировать элементы крови. Клинические наблюдения подтверждают тот факт, что очень бедный миелоидными элементами, но богатый жировыми клетками костный мозг сохраняет способность к физиологической регенерации.
5. *Плазматическая клетка, плазмоцит.* Плазматические клетки встречаются в нормальном костномозговом пунктате в незначительном количестве, составляя, по данным разных авторов, от 0,1 до 3%.

О плазматических клетках будет сказано ниже, в последующих лекциях.

Таким образом, во всех гемопоэтических органах эмбриона и плода происходят тождественные процессы. Циркулирующие первичные гемопоэтические стволовые клетки расселяются в специфической тканевой нише способом, который до конца еще не понят. Там они дифференцируются в клетки, распознаваемые как гемопоетические предшественники. Эти эмбриональные гемопоэтические предшественники, вероятно, способны к мультилинейной дифференцировке, но в каждом конкретном месте процесс гемопоэза может быть нацелен на формирование определенной линии клеток, возможно, под влиянием локального микроокружения. Различные очаги эмбрионального гемопоэза активны только на соответствующих этапах развития. За этой активацией следует программированая инволюция. Исключение составляет костный мозг, который сохраняется как основной центр гемопоэза у взрослых. Лимфатические узлы, селезенка, тимус и другие лимфоидные ткани продолжают выполнять лимфопоэтическую функцию и у взрослого человека.

* 1. **Определение системы крови и ее функций**

***Система крови***– это единая система кроветворных органов и крови, обеспечивающая образование форменных элементов крови, транспортную, защитную, регуляторную и другие функции в целях стабилизации всех констант организма и обеспечения постоянства его внутренней среды. Понятие «система крови» предложена Г.Ф. Лангом в 1939 г. ввиду неразрывной функциональной связи кроветворных органов и крови.

К кроветворным органам человека относят вилочковую железу, костный мозг, лимфатические узлы и селезенку. Кроветворение в этих органах, за исключением костного мозга, осуществляется в основном в антенальном периоде, а после рождения интенсивность его быстро снижается. В постнатальном периоде основным кроветворным органом становится костный мозг. Главной функцией органов кроветворения является образование зрелых клеток периферической крови в процессе клеточных дифференцировок.

*Кровь* – это ткань организма, состоящая из жидкой части( плазмы) и взвешенных в ней клеточных(форменных) элементов. Кровь осуществляет транспорт химических веществ (в том числе кислорода), благодаря которому происходит интеграция биохимических процессов, протекающих в различных клетках и межклеточных пространствах. Основная функция крови – транспортная, т. е. перенос различных веществ, в том числе тех, с помощью которых организм защищается от воздействия окружающей среды или регулирует функции отдельных органов.

В зависимости от характера переносимых веществ различают следующие функции крови:

1. *Дыхательная* функция – транспорт кислорода от легочных альвеол к тканям и углекислоты от тканей к легким.
2. *Трофическая* (питательная) функция – перенос во все клетки организма питательных веществ (глюкозы, аминокислот, жиров, витаминов, минеральных веществ, воды).
3. *Экскреторная* функция – перенос конечных продуктов обмена веществ (мочевины, креатинина, мочевой кислоты и т. д.) в почки и другие органы (например, кожу, желудок) и участие в процессе образования мочи.
4. *Гомеостатическая* функция – достижение постоянства внутренней среды организма, благодаря перемещению крови и омыванию ею всех тканей.
5. *Регуляторная* функция – перенос гормонов, вырабатываемых железами внутренней секреции, и других биологически активных веществ, при помощи которых осуществляется регуляция функций отдельных клеток тканей.
6. *Терморегуляторная* функция – охлаждение кровью энергоемких органов и согревание органов, теряющих тепло, благодаря ее высокой теплопроводности и теплоемкости.
7. *Защитная* функция крови прежде всего представлена функционированием системы иммунитета и системы гемостаза. Током крови удаляются и обезвреживаются образующиеся при повреждении тканей продукты их деструкции.

**2. Нормальное кроветворение**

Из всех лабораторных тестов наиболее востребован общий (клинический) анализ крови, отражающий широкий спектр как часто встречающихся, так и менее распространенных нарушений здоровья, которые могут быть связаны с отклонениями количества клеток крови от нормы. Конечно, это не один тест, а набор анализов, включающих подсчет каждого из трех видов форменных элементов крови: эритроцитов, тромбоцитов и кровяных пластинок (тромбоцитов).

* 1. **Воспроизводство эритроцитов**

Из трех типов форменных элементов крови эритроциты – наиболее многочисленный, их количество превосходит число лейкоцитов примерно в 1000 раз, а кровяных пластинок в 100 раз. Процесс воспроизводства клеток крови, который называется гемопоэзом, происходит в костном мозге. В раннем детстве все кости содержат костный мозг, способный вырабатывать клетки крови, но у взрослых этот процесс ограничен костным мозгом ребер, позвонков, грудины, лопаток, тазовых костей, например бедра и плеча. Все клетки крови происходят от так называемых плюрипотентных (полипотентных) стволовых клеток костного мозга, которые потенциально способны превращаться в клетки, предназначенные стать зрелыми эритроцитами, лейкоцитами или тромбоцитами.

**Таблица 1.**Лабораторные анализы, оценивающие функции эритроцитов.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель | Что измеряется | Единицы измерения |
| КоличествоэритроцитовГемоглобинГематокритСредний объемэритроцита | Концентрацияэритроцитов в кровиКонцентрациягемоглобина в кровиПроцентная доляэритроцитов в цельной кровиСредний объемэритроцита | n · 1012/лг/л (г/дл)%мкм3 |

* + 1. **Теория и схема кроветворения**

Обеспечение кроветворения, строго адекватного запросу, возможно благодаря сложной системе его регуляции. Установлено, что более 95% всех клеток кроветворной ткани (костный мозг, селезенка, и лимфоузлы), хорошо изученных морфологически, не участвуют в постоянных регуляторных процессах, так как их гистогенез уже определен на предыдущих этапах дифференцировки. Качественная и количественная регуляция кроветворения осуществляется клетками-предшественниками гемопоэза последовательно в несколько этапов.

Прямое экспериментальное изучение этих клеток стало возможным благодаря развитию с начала 60-х годов ХХ столетия клональных методов исследования (введение смертельно облученным мышам костного мозга здоровых мышей с обнаружением через 7-10 дней в селезенке облученных животных колоний, состоящих из развивающихся кроветворных клеток). Эти и другие постоянно совершенствующиеся методы изучения кроветворных клеток, в том числе радиобиологические, иммунологические, электронномикроскопические, генетические, позволили зарубежным и отечественным исследователям накопить важные фактические данные, характеризующие кинетику клеточных популяций в процессе кроветворения. Отражением достигнутого уровня знаний явилось построение схем кроветворения, которые в отличие от предыдущих вносят уточнение в представление о ранних стадиях гемопоэза, когда морфологическое разделение клеток еще невозможно.

Наиболее признанные современные схемы кроветворения И.Л. Черткова и А.И. Воробьева (1973, 1981) и Аstaldi с соавторами (1973) исходят из представления о происхождении всех клеток крови из единого источника, что составляет сущность унитарной теории кроветворения, сформулированной в 20-е годы А.А. Максимовым и получившей в настоящее время экспериментальное подтверждение и дальнейшее развитие. Родоначальным элементом клеток крови служит полипотентная стволовая клетка (см. таблицу №2) (колониеобразующая единица в селезенке – КОЕс), способная к разнообразным дифференцировкам и обладающая свойством самоподдержания (пролиферации без видимой дифференцировки) в течение всей жизни индивидуума. В отделе стволовых клеток, число которых в кроветворной ткани менее 1%, осуществляется качественная регуляция кроветворения, т.е. снабжение его всеми видами предшественников, в том числе и лимфоцитарных. Без участия стволовых клеток отделы коммитированных (с выбранным направлением дифференцировки) предшественников, имеющих ограниченное время существования, не способны поддержать постоянно обновляющиеся популяции клеток крови в течении длительного срока. Пролиферация и дифференцировка стволовых клеток происходит только в кроветворной ткани в соседстве со стромальными клетками, создающие для них необходимое микроокружение. В настоящее время нет данных, свидетельствующих о возможности перехода стромальных клеток в стволовые гемопоэтические и поддержании таким образом непрерывного кроветворения. Напротив, показано, что стволовые клетки сами способны к безграничному самоподдержанию и признание этого факта составляет принципиальное отличие всех современных схем кроветворения от предыдущих, допускающих происхождение кроветворных клеток (гемоцитобластов) из стромальных ретикулярных клеток (гемогистобластов). Несмотря на то, что стволовая клетка, видимо, способна проделывать около 100 митозов, ее пролифиративная активность в условиях нормального кроветворения невелика; основная масса стволовых клеток находится вне клеточного цикла и лишь 10-20% их медленно пролиферирует с периодом генерации до 10 дней. Регуляция темпа пролиферации и поддержания числа стволовых клеток обеспечивается близкодействующими механизмами при участии специального индуктора микроокружения, вероятность ухода стволовых клеток в дифференцировку при стабильном кроветворении равняется примерно 50%. Имеющиеся экспериментальные данные показывают, что первый этап дифференцировки стволовых клеток, приводящий к образованию самых ранних предшественников того или иного ряда, не зависит от запроса, частота соответствующих дифференцировок стабильна и, видимо, закреплена генетически.

**Таблица 2*.***Схема гемопоэза (по Воробьеву и И.Л. Черткову)

|  |  |
| --- | --- |
| Классы |  |
| I.Полипотентные | Сhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m119a86dc.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m2ccbd81d.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m77e6f8e8.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifтволовая клетка |
| I.Ограничено полипотентные | Кhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifлетка-предшественницалhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/4a5071e3.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m58af40fa.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m493ecc0b.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifимфопоэза | Кhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifлетка-предшественницамhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m9d3810e.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m7f18a188.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifиелопоэза |
| III.Унипотентные | пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifредшественницаТ-лимфоцитов | предшественницаВhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gif-лимфоцитов | Кhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m493ecc0b.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4097cad9.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifОЭ-ГМ | Кhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifОЭ-ГЭ | Кhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifОЭ-МГЦЭ |
| IV. | Т-лимфобласт | Вhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gif-лимфобласт | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifонобласт | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifиелобластыБhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gif Эо Н | Эhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gifритро-бласт | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifегакариобласт |
|  | Тhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gif-пролимфоцит | В-пролимфоцит | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m1d3353ce.gifромоноцит | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m659d388f.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifромиелициты | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m782c57ec.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifронорм-оцит | Промегакариоцит |
|  | Т-лимфоцит | В-лимфоцит |  | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5f0ea7d.gifиелоциты | Нhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifормо-цитбhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/307baa46.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifазофильный | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m487bc18c.gifегакарио-цит |
|  | Тhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m3def312e.gif-иммунобласт | Вhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gif-иммунобласт |  | Мhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5f0ea7d.gifетамиелоциты (юные) | Нормо-цитпhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m63ab47df.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifолихроматофильный |  |
|  |  | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gifлазмобласт |  | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/485b0ad2.gifалочкоядер-ные | Нhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifормо-цитоксифильный |  |
| V.Созревающие |  | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5f0ea7d.gifроплазмоцит |  |  | Рhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/31cd61a1.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifетикулоцит |  |
| VI.Зрелые | АктивированныйТ-лимфоцит | Плазмоцит | Моноцит | Сеггментоядер-ныеБhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m4db59a0.gif Эо Н | Эритро-цит | Тромбоцит |

Примечание: Б – базофилы,

Эо – эозинофилы,

Н – нейтрофилы.

Ближайшей ступенью дифференцировки стволовой клетки является класс (II) частично детерминированных полипотентных клеток-предшественников миелопоеза и лимфопоэза. Существование клетки-предшественницы миелопоеза доказано на примере ряда лейкозов, прежде всего хронического миелолейкоза, при котором приобретенный дефект генетического аппарата – появление укороченной хромосомы в 22-й паре, обнаружен в трех ростках кроветворения (гранулоцитарном, мегакариоцитарном, эритроцитарном), но не в лимфоцитарном. Точно так же исключительно в клетках этих трех ростков выявлено повреждение, наблюдаемое при пароксизмальной гемоглобинурии с постоянной гемосидеринурией – болезни Маркиафавы-Микели. Разработаны методы, позволяющие обнаружить клетку-предшественницу миелопоэза (КОЕ-ГЭММ) человека в культуре (в присутствии специального стимулятора). Частично детерминированные полипотентные клетки-предшественницы могут тормозить пролиферацию стволовых клеток и имеют ограниченные возможности к самоподдержанию (3-4 нед.)

В процессе дальнейшей дифференцировки образуются унипотентные предшественники (III класс), которые также не способны к длительному самоподдержанию, однако при прохождении через этот этап количество клеток, ушедших в дифференцировку, возрастает в десятки тысяч раз, так как на стадии унипотентных предшественников возможное число проделываемых ими митозов равняется 10-15, а доля пролиферирующих клеток составляет 60-100%. В данном отделе осуществляется основная количественная регуляция кроветворения, т. е. обеспечение необходимого количества клеток нужного типа в ответ на конкретные потребности (запрос) организма. Существуют гуморальные регуляторы кроветворения – поэтины (гормоны), один из которых, эритропоэтин, хорошо изучен. Поэтины не только вызывают дифференцировку унипотентных предшественников в морфологически распознаваемые элементы, но и определяют число митозов совершаемых в процессе дифференцировки клетками данного класса. В результате III класс поэтинчувствительных клеток-предшественниц оказался подразделенным на два подкласса – клеток, способных к дифференцировке в направлении двух ростков, и клеток, дифференцирующих лишь в одном направлении.

К этому классу отнесены следующие клетки: клетка-предшественница грануло- и моноцитопоэза (КОЕ-ГМ), способная дифференцироваться как в моноциты-макрофаги, так и гранулоциты; смешанная гранулоцитарно-эритроцитарная клетка-предшественница (КОЕ-ГЭ); мегакариоцитарно-эритроцитарная колониеобразующая единица (КОЕ-МГЦЭ); самостоятельная клетка-предшественница гранулоцитов (КОЕ-Г); отдельная клетка-предшественница моноцитопоэза (КОЕ-М); клетка-предшественница эозинофилов (КОЕ-Э); клетка-предшественница базофилов (КОЕ-Б), которая однако допускается по аналогии с предыдущей, так как пока нет метода ее выявления (предполагают существование и клетка-предшественница тучной клетки, близкой по своей гепаринопродуцирующей функции к базофилам); клетка-предшественница мегакариоцитов (КОЕ-МГЦ).

Клетки, учавствуют в эритропоэзе – это уже упоминавшаяся КОЕ-ГЭ; бурстообразующая («бурсты» – большие колонии) эритроидная единица (БОЕ-Э), зрелая и незрелая; эритроидная колониеобразующая единица (КОЕ-Э). Эритропоэз в обычных условиях проходит стадии БОЕ-Э→КОЕ-Э или КОЭ-ГЭ→БОЕ-Э→КОЕ-Э и затем стадию морфологически распознаваемых эритробластов – проэритробласт (пронормобласт), но в определенных условиях, например при напряженном эритропоэзе, может, по-видимому миновать стадии КОЕ-Э и БОЕ-Э. В настоящее время можно считать доказанным, что при повышенной потребности в отдельных клетках крови наряду с основным кроветворением происходит и параллельно шунтовое, обеспечивающее дополнительную быструю продукцию каждого из рядов кроветворения и имеющие самостоятельные клетки-предшественницы.

Перечисленные выше классы клеток, начиная со стволовых клеток и кончая унипотентными поэтинчувствительными клетками морфологическими методами не различаются, известно лишь, что все они могут находиться в двух состояниях: лимфоцитоподобном-спокойном, и бластном-активном (бласты – клетки, имеющие нежно-структурное, равномерномерноокрашенное ядро с нуклеолами и беззернистую неширокую цитоплазму).

Очередными ступенями дифференцировки клеток-предшественниц кроветворной ткани является класс (отдел) морфологически распознаваемых пролиферирующих клеток (миелобласт, пронормобласт, мегалобласт, монобласт), затем класс созревающих клеток (миелоцит, нормобласты и др.), наконец, класс зрелых клеток (эритроцит, тромбоцит, гранулоциты). В процессе дифференцировки морфологически распознаваемые клетки эритроцитарного ряда проходят 5-6 митозов, гранулоцитарного – 4 митоза, в процессе моноцитопоэза от монобласта до макрофага – 7-8 митозов, клетки мегакариоцитарного ряда проделывают 4-5 эндомитозов (деление ядер без деления всей клетки – процесс полиплоидизации). Последними клетками, способными к делению, среди гранулоцитов являются миелоциты, среди ядерных эритроидных клеток – полихроматофильные нормобласты (нормоциты), дальнейшее созревание этих клеток идет без деления. Время созревания гранулоцитов в костном мозге, по данным разных авторов, равняется 60-204 ч, генерационное время клеток красного ряда – в среднем 42-60 ч, время созревания мегакариоцидов – 120 ч (весь жизненный цикл мегакариоцитов исчисляется 10-ю днями).

В отличие от миелопоэза, сведения о котором получают из поведения клеток в различных условиях культивирования, представление о лимфопоэзе основывается главным образом на изучении антигенных клеточных маркеров (поверхностных и цитоплазматических), которые не одинаковы как для Т- и В- лимфоцитов, так и для различных стадий дифференцировки этих двух основных направлений лимфопоэза. По выявления соответствующих маркеров в настоящее время оказалось возможным идентифицировать клетки-предшественницы В-лимфоцитов (пре-В-клетки) и клетки-предшественницы Т-лимфоцитов (претимоциты), а также отдельные субпопуляции Т-лимфоцитов (супрессоры, хелперы), однако в схеме дана преимущественно морфологическая дифференцировка В- и Т-лимфоцитов. Имеется принципиальная разница в поведениии на конечных этапах дифференцировки клеток лимфоидного и миелоидного рядов. Если развитие клеток миелоидного ряда строго детерминировано вплоть до гибели, то в лимфоидном ряду под влиянием специфических индукторов (антиген) возможен переход морфологически зрелых лимфоцитов в соответствующие бластные формы (например, В-лимфоцит – В-иммунобласт – плазматические клетки). Поэтому в схеме кроветворения разделены лимфобласты и иммунобласты: лимфобласт – морфологически распознаваемый предшественник лимфоцита, иммунобласт представляет собой стадию существования активированного лимфоцита (бласттранформация, синтез ДНК), предшествующую проявлению его функциональной активности (в частности, для В-лимфоцитов – секреция иммуноглобулинов).

Все тканевые макрофаги имеют костномозговое происхождение циркулирующие в крови моноциты служат промежуточной стадией между ними и костномозговыми предшественниками. Поскольку клетки, обладающие способностью к фагоцитозу, пиноцитозу и прикреплению к стеклу, не имеют, таким образом, гистогенетической общности ни с ретикулярными клетками (фибробластами), ни с эндотелием, то систему, выполняющую в организме эту функцию, обозначают как систему фагоцитирующих мононуклеаров вместо ретикулоэндотелиальной системы – РЭС.

Таким образом, наиболее примитивная из клеток в костном мозге, которая обязательно превратится в зрелый эритроцит – пронормобласт (проэритробласт). Он развивается путем деления и дифференцировки, проходя хорошо различимые стадии: нормобласт, ретикулоцит, и ,наконец, зрелый эритроцит. Это развитие от стволовой клетки до зрелого эритроцита характеризуется следующими чертами:

* постепенным уменьшением размера;
* потерей ядра, и следовательно, способностью к делению;
* потерей внутриклеточных органелл.

Последняя стадия созревания (ретикулоцита в эритроцит) происходит как в костном мозге, так и в периферической крови; обычно 1-3% циркулирующих эритроцитов являются ретикулоцитами.

В ретикулоцитах продолжается биосинтез белка (глобина), гема, пуринов, пиридиннуклеотидов, липидов, фосфатидов. Превратившись через 1-3 дня в зрелые эритроциты, они длительно циркулируют в переферической крови. Созревание ретикулоцита сопровождается существенными изменениями в обмене веществ; прекращается значительная часть синтетических процессов (синтез белка гема), почти полностью утрачивается способность к дыханию свойственная ядросодержащим эритроидным клеткам. Никаких более ранних форм эритроцитов в норме кровь не содержит.

Продолжительность жизни эритроцитов составляет около120 дней. Необходимо их постоянное обновление: каждую секунду в костном мозге воспроизводится с среднем около 2,3 млн эритроцитов. Этот процесс регулируется эритропоэтином, о котором уже говорилось выше – гормоном, который синтезируется в клетках почек. В ответ на снижение уровня кислорода в крови почка высвобождает эритропоэтин в кровоток для транспортировки его в костный мозг. Здесь эритропоэтин стимулирует воспроизводство эритроцитов. Как только количество эритроцитов повышается, содержание кислорода в крови возрастает и продукция эритропоэтина в почке снижается.

Существуют и другие регуляторы эритропоэза, в частности стимулирующим продукцию эритроцитов действием обладают андрогены, благодаря способности повышать биосинтез эритропоэтина, но также вероятно, путем непосредственного воздействия на клетки-предшественницы в костном мозге (противоположное действие на эритропоэз оказывают эстрогены, по-видимому, вследствие подавления образования эритропоэтина).



**Рис. 1** Схема нормального гемостаза

В условиях экспериментальной полицитемии были обнаружены ингибиторы эритропоэза: ими могут быть эритроцитарные кейлоны – клеточные регуляторные субстанции, ингибирующие митоз (пролиферацию) эритробластов.

1. **Структура и функции эритроцитов**

Структура зрелого эритроцита хорошо подходит для выполнения его основной функции: переноса кислорода от легких к тканям и переноса углекислого газа от тканей к легким. Главное звено этой функции – белок гемоглобин, содержащийся в эритроцитах. Образование гемоглобина происходит в эритроцитах во время их раннего развития в костном мозге и завершается до полного созревания. Каждый зрелый эритроцит покидает костный мозг с полным комплектом из 640 млн молекул гемоглобина. Обычно описываемый как двояковогнутый диск, зрелый эритроцит может быть представлен как сплюснутая сфера, с поверхностными вдавлениями. Эта уникальная форма дает наибольшую площадь поверхности для имеющегося объема, обеспечивая максимальные возможности для обмена кислорода и углекислого газа. Диаметр эритроцита около 8 мкм, что в два раза больше диаметра самых мелких кровеносных сосудов, через которые он должен пройти. Мембрана способна деформироваться, через микрососуды в тканях и альвеолах легких, где происходит обмен газов. Эритроцит, не содержащий ядра и других внутриклеточных органелл, можно рассматривать как деформируемую мембранную сумку, заполненную гемоглобином.

1. **Структура и функции гемоглобина**

***Гемоглобин*** – это пигмент эритроцитов, переносящий кислород и обусловливающий цвет крови. Молекула гемоглобина состоит из 4 сложенных цепей аминокислот. Вместе они формируют белковую, или глобиновую, часть молекулы. Каждая из четырех глобиновых субъединиц имеет присоединенную группу гема, а в центре каждой группы гема имеется атом железа в форме Fe2+.

В то время как структура группы гема всегда одинакова, точная последовательность аминокислот в глобиновых субъединицах слегка варьируется – имеется четыре разновидности глобиновых цепей: альфа (α), бета (β),гамма (γ) и дельта(δ). Примерно 97 % гемоглобина взрослых – это гемоглобин А (HbA), состоящий из двух α и двух β глобиновых субъединиц. Оставшиеся 3 % приходятся на HbA2 (две α- и две δ- глобиновых цепи). У развивающегося плода и в первые несколько месяцев жизни образуется только фетальный гемоглобин (HbF), состоящий из двух α- и двух γ-глобиновых субъединиц.

**4.1. Биосинтез гемоглобина**

***Биосинтез гемоглобина*** осуществляется путем синхронной продукции гема и глобиновых цепей в эритроидных клетках костного мозга и их сочетания с образованием законченной молекулы.

Синтез полипептидных цепей, входящих в состав глобина, происходит под контролем структурных и регуляторных генов. Полагают , что структурные локусы, определяющие синтез α-цепей в течении всей жизни человека (эмбриональной и постнатальной) находится в одной паре хромосом. Структурные локусы, детерминирующие синтез β- и δ-цепей, содержатся в другой паре хромосом. Возможно, что гены γ-цепей находятся рядом с β- и δ-генами. Гены-регуляторы, по-видимому, занимают смежные со структурными генами цистроны. В первой половине фетальной жизни у человека активны, главным образом, локусы α-, γ- и ε-цепей (последний лишь кратковременно в раннем периоде эмбриональной жизни). После рождения одновременно с «выключением» локуса γ-цепей активизируются локусы ρ- и δ-цепей. В результате такого «переключения» происходит замена фетального гемоглобина (HbF) гемоглобином взрослого (HbA) с малой фракцией HbA2. Синтез гемоглобиновых цепей представляет собой частный пример белкового синтеза в клетке. Генетическая информация, определяющая последовательность расположения аминокислот в полипептидных цепях, закодирована в ДНК с помощью составляющих гены оснований. Заключенная в ДНК информация в процессе транскрипции передается из ядра в цитоплазму с помощью посредника – информационной РНК (иРНК). Последняя диффундирует в цитоплазму и действует как матрица для синтеза белка, происходящего в рибосомах. Аминокислоты, из которых образуется полипептидная цепь, транспортируются к рибосомам с помощью транспортной РНК (тРНК), причем большинство аминокислот имеет различные виды тРНК.

Гемовая часть молекулы гемоглобина синтезируется отдельно с помощью серии регулируемых энзиматических ступеней. На первом этапе биосинтеза порфиринов в результате соединения глицина с производным янтарной кислоты (янтарная кислота связывается с коэнзимом А с образованием активной формы сукцинил-КоА) синтезируется δ-аминолевулиновая кислота с помощью фермента синтетазы δ-аминолевулиновой кислоты (в этом синтезе участвуют кофермент витамина В6-пиридоксальфосфат.). На следующем этапе из двух молекул δ-аминолевулиновой кислоты благодаря ферменту дегидразы δ-аминолевулиновой кислоты образуется вначале уропорфиноген (III изомер), затем копропорфиноген при участии фермента декарбоксилазы уропорфиногена. Из копропорфиногена под влиянием декарбоксилазы копропорфиногена синтезируется протопорфирин, который соединяясь с железом, образует гем. Соединение протопорфина с железом осуществляет фермент гемсинтетаза.

Железо гемоглобина составляет примерно 60% всего содержащегося в организме железа (3-4 г у здорового взрослого человека). Транспортировка железа в костный мозг происходит в комплексе с трансферином – специфическим белком, содержащимся в -глобулиновой фракции плазмы крови. Трансферин имеет сродство к эритроидным элементам костного мозга, так как при экспозиции меченого трансферина с различными клетками он обнаруживается только в связи с предшественниками эритроцитов (в полихроматофильных и ортохромных нормобластах, ретикулоцитах) и не выявляется в мембране лейкоцитов, тромбоцитов и зрелых эритроцитов. Железо поступает в митохондрии, где связывается с протопорфирином в присутствии гемсистетазы. Клетки, в которых содержащиеся в митохондриях железо имеют вид гранул, называют сидеробластами, обычно они составляют 20-50% всех эритроидных элементов костного мозга. При дефиците железа сидеробласты в первую очередь исчезают из костного мозга, что считают одним из ранних признаков недостаточности железа.

Важнейшей и уникальной особенностью обмена железа является реутилизация – многократное повторное использование этого элемента в процессах имеющих циклический характер. Около 40% освободившегося при разрушении гемоглобина железа появляется в новых эритроцитах в течении 12-14 дней. Остальная его часть поступает в ферритин и гемосидерин (депо железа в печени, селезенке, слизистой кишечника, костном мозге) и включается повторно в обмен более медленно (у здорового человека около половины этого железа остается в запасе на протяжении 140 дней). Каждые сутки для обеспечения эритропоэза из плазмы крови в костный мозг поступает около 25 мг железа.

**4.2. Транспорт кислорода гемоглобином**

Cвойство гемоглобина связывать кислород определяется тем, что в центре каждого из четырех гемов находится по атому железа. Молекулы кислорода формируют слабую неполярную связь с атомами железа. Продукт этой реакции называется оксигемоглобином. Когда все четыре гема заняты кислородом, говорят, что молекула гемоглобина насыщена. Степень, до которой насыщается гемоглобин, зависит от содержания кислорода в крови. Насыщение гемоглобина кислородом увеличивается, когда парциальное давление кислорода в крови (РО2) повышается. Физиологическое значение этого соотношения лежит в основе транспортной функции гемоглобина. В легких кислород вдыхаемого воздуха проходит через альвеолы в кровь, так что РО2 высокое (около 95 мм рт. ст.). При высоком РО2 сродство гемоглобина к кислороду увеличивается и гемоглобин быстро (за несколько секунд) полностью насыщается (до 100%). Наоборот, в тканях РО2 относительно низкое (только около 40 мм рт. ст.), поэтому и сродство гемоглобина к кислороду снижено. В результате кислород высвобождается из гемоглобина и диффундирует из эритроцитов в тканевые клетки, где используется в процессах клеточного метаболизма.

**4.3. Роль эритроцитов и гемоглобина в транспорте СО2**

В то время как транспорт кислорода из легких к тканям почти полностью зависит от гемоглобина в эритроцитах, транспорт двуокиси (диоксида) углерода в обратном направлении немного сложнее. Двуокись углерода, в отличии от кислорода, растворима в плазме крови, так что большое количество СО2 переносится просто в растворенном виде. Остаток транспортируется эритроцитами. В тканях СО2 диффундирует из клеток в кровоток. Часть остается растворенной в плазме, а часть диффундирует в эритроциты. Внутри эритроцитов часть углекислоты соединяется с гемоглобином, освободившимся от кислорода, и формирует карбгемоглобин, а часть соединяется с водой в цитоплазме эритроцитов и образует угольную кислоту. Эту реакцию катализирует фермент карбоангидраза. Угольная кислота диссоциирует на ионы водорода (количество которых определяется гемоглобином) и бикарбонат-ионы, которые диффундируют из эритроцитов в плазму. В легких эти клеточные реакции протекают в обратном направлении, и СО2 , диффундируя из эритроцитов, проходит вместе с СО2 , растворенным в плазме крови, в альвеолы, чтобы выделиться с выдыхаемых воздухом.

1. **Нормальное разрушение эритроцитов**

Примерно после 120 дней жизни эритроциты теряют жизнеспособность и удаляются из крови ретикулоэндотелиальной системой, когда кровь проходит через костный мозг, селезенку и печень. В течении этого времени часть эритроцитов разрушается, другие циркулируют в кровяном русле. В физиологических условиях число разрушающихся эритроцитов равно числу вновь генерируемых, благодаря чему сохраняется постоянное нормальное их количество. Разрушение эритроцитов может произойти под влиянием различных случайных факторов, связанных с их движением и физико-химическими свойствами окружающей среды, и в результате старения. В физиологических условиях стареющие эритроциты удаляются из циркуляции и разрушаются преимущественно в селезенке, печени и в меньшей степени в костном мозге (в норме костный мозг более активен в отношении эритрокариоцитов, 10-15% которых не используются в эритропоэзе и разрушаются) клетками системы фагоцитирующих мононуклеаров. Известно, что фракция IgG сыворотки содержит аутоантитела против старых эритроцитов, прикрепление которых к эритроцитам приводит к фагоцитозу последних.

При разрушении мембраны эритроцитов высвобождается гемоглобин, который расщепляется на составные части: гем и глобин. Железо гема используют для воспроизводства новых эритроцитов, а глобиновые цепи разрушаются до аминокислот, которые пополняют запас аминокислот организма. То, что осталось от гема после удаления железа, превращается в желтый пигмент билирубин, который транспортируется кровью к печени для дальнейшего метаболизма и выведения, большей частью с желчью и фекалиями; остаток выделяется в виде метаболитов билирубина-уробилина и уробилиногена – с мочой.

1. **Клиническая оценка показателей красной крови**

Среднее значение и пределы нормальных колебаний основных показателей красной крови у взрослого человека представлены в таблице 3.

**Таблица 3**Показатели красной крови у здорового человека.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Число эритроцитов | Концентрация гемоглобина, г/л | Гематокрит,% | Средний объем эритроцитов, мкм3 | Среднее содержание Нb в 1 эритроците, пг | Средняя концентрация Нb в эритроцитах,% |
| 4,0·1012-5,1·1012/л3,7·1012-4,7·1012/л | 130-160120-140 | Мужчины40-48Женщины36-42 | 75-9675-96 | 27,0-33,327,0-33,3 | 30-38%30-38% |

Количество эритроцитов подвергается дневным колебаниям (нормальный биоритм), но эти колебания незначительны. Некоторые физиологические факторы могут существенно изменять эритроцитарные показатели.

На число эритроцитов влияют:

* возраст (у новорожденных оно выше, чем у взрослых, в среднем 5,7·1012 эритроцитов в 1 л крови, затем быстро снижается ко 2-4-му месяцу жизни, составляя в последующем в среднем 4,2·1012 эритроцитов в 1 л крови, уровень взрослого устанавливается к 14 годам);
* пол (женщины имеют значительно более низкое число эритроцитов, чем мужчины, что объясняют ингибирующим действием эстрогенов на эритропоэз; в допубертатном периоде и в старческом возрасте разницы в числе эритроцитов лиц мужского и женского пола нет);
* физическая и эмоциональная нагрузка (умеренная физическая нагрузка мало влияет на число эритроцитов, однако интенсивные физические упражнения, а также сильные волнения могут значительно повысить уровень эритроцитов в крови);
* положение тела (при заборе крови в лежачем положении число эритроцитов на 5,7% ниже, чем в положении стоя, у больных анемией эта разница еще выше);
* концентрация крови (дегидратация при интенсивном потоотделении, ожогах может приводить к резкому увеличению числа эритроцитов и гематокрита за счет уменьшения объема плазмы);
* подъем на высоту (высота – важный фактор, влияющий на число эритроцитов и концентрацию гемоглобина в крови: чем выше над уровнем моря и меньше парциальное давление кислорода в атмосфере, тем выраженнее гипоксия и вызванная ею стимуляция эритропоэза). Высотная гипоксия сопровождается увеличением общей массы эритроцитов и более высоким содержанием плазменного железа, которые приходят к норме примерно через месяц после возвращения к уровню моря. У жителей высокогорных областей отмечается стойкое повышение показателей красной крови; в некоторых случаях развивается горная болезнь, характеризующаяся цианозом, повешением гематокрита и вязкости крови, развитием легочного сердца.

Увеличение количества эритроцитов и концентрация гемоглобина в единице объема крови называется эритроцитозом (полиглобулией.)

Показатель гематокрита соответствует процентной (на 100 объемных единиц крови) массе эритроцитов венозной или капиллярной крови после центрифугирования в гематокритной трубочке в стандартных условиях до получения плотного столбика эритроцитов. Для этой цели кровь центрифугируют либо в обычной (электрической) центрифуге со скоростью 3000 об/мин в течении получаса, либо в специальной центрифуге, дающей высокие обороты (16 500 об/мин) в течении минуты.

Средний объем эритроцитов определяется с помощью гематокрита по соотношению эритроцитов и плазмы.

Концентрация гемоглобина в 1 µ3 массы эритроцитов определяется путем деления среднего содержания гемоглобина в одном эритроците на средний объем одного эритроцита.

Эритроцитозы, наблюдаемые в патологии, бывают абсолютные (увеличение массы циркулирующих эритроцитов вследствие увеличения эритропоэза) и относительные (уменьшения объема плазмы – сгущение крови без увеличения эритропоэза). Абсолютные эритроцитозы бывают первичными (эритремия, относящаяся к группе гемобластозов), но чаще они являются вторичными (симптом от какого-либо заболевания). Основные состояния, характеризующиеся повышением числа эритроцитов и концентрации гемоглобина, представлены в таблице.

Наиболее частой причиной эритроцитоза является гипоксия. Вторичные эритроцитозы на почве гипоксии в отличие от эритремии характеризуются снижением насыщенности крови кислородом (при эритремии она нормальная), обычно высоким уровнем эритропоэтина (при эритремии уровень эритропоэтина в крови и моче ниже нормального), отсутствием лейкоцитоза, тромбоцитоза, спленомегалии (панцитоз свойствен эритремии и отражает миелоидную гиперплазию костного мозга). При относительных эритроцитозах насыщение крови кислородом нормальное, но отмечается снижение общего объема плазмы (повышение гематокрита без увеличения общего объема крови в отличие от абсолютных эритроцитозов, особенно эритремии, где имеется повышение эритроцитарной массы и общего объема крови).

**Таблица 4.**Эритроцитозы

|  |  |
| --- | --- |
| **Основные группы** | **Клинические формы** |
| I. Абсолютные эритроцитозыПервичные Вторичные:Вызванные гипоксиейСвязанные с повышенной продукцией эритропоэтинаСвязанные с избытком адренокортикостероидов или андрогенов в организмеII. Относительные эритроцитозы | ЭритремияЗаболевания легких: обструктивная вентиляционная недостаточность (хронический обструктивный бронхит, обструктивная эмфизема легких); рестриктивная вентиляционная недостаточность (пневмокониозы, саркоидоз, бактериальные, вирусные и паразитарные поражения, гистиоцитоз); диффузные заболевания печени; врожденные заболевания сердца с шунтом справа – налево; стеноз легочной артерии, высокий дефект межжелудочковой перегородки; присутствие аномальных гемоглобинов: метгемоглобинемия, носительство гемоглобина с повышенным сродством к кислороду (наследственный эритроцитоз) и др.Рак паренхимы почки, гидронефроз и поликистоз почек, рак паренхими печени, доброкачественный семейный эритроцитоз (наследственный)Синдром Кушинга, феохромоцитома, гиперальдостеронизмПотеря жидкости организмом, эмоциональные стрессы, алкоголизм, усиленное курение, системная гипертензия |

В последнее время повысился интерес к наследственным эритроцитозам – гетерогенной группе заболеваний с аутосомно-доминантной или рецессивной формой наследования и сравнительно доброкачественным течением. Заболевание чаще выявляется в детском возрасте, носит обычно семейный характер, хотя встречаются и спорадические случаи, в основе патогенеза могут лежать изменения функции гемоглобина (мутантные гемоглобины с повышенным сродством к кислороду вследствие замещения аминокислот, расположенных вблизи гемовых групп, при уменьшении 2,3-дифосфоглицетата или повышении АТФ в эритроцитах), автономное повышение продукции эритропоэтина (вероятно, вследствие нарушения регулирующих механизмов) и другие невыясненные причины.

Уменьшение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в единице объема крови называется анемией. От истинной анемии, характеризующейся абсолютным уменьшением эритроцитарной массы, нужно отличать анемию (эритроцитопению) вследствие гидремии (снижение гематокрита из-за увеличения объема плазмы). При постановке патогенетического и этиологического диагноза анемии большое значение имеет оценка всех показателей красной крови: среднего объема клетки, среднего содержания и концентрации гемоглобина в эритроцитах, числа ретикулоцитов, характеристика эритроцитов в мазке крови – формы, величины, включений.

1. **Специфические факторы (витамины) эритропоэза**

Для нормального течения процессов гемопоэза важнейшее значение имеют специфические факторы кроветворения, относящиеся к витаминам группы В. Наиболее выраженными стимулирующими свойствами по отношению к гемопоэзу в целом и особенно по отношению к эритропоэзу обладают витамин В12 и фолиевая кислота.

Формула витамина В12 , расшифрованная на основании рентгеноструктурного изучения, соответствует суммарному составу С63Н90С14РС0 с молекулярным весом 1357.

В нормальных условиях насыщение организма витамином В12 всасывание его происходит на протяжении всей тонкой кишки. Важно знать, что наиболее интенсивное всасывание витамина В12 совершается на уровне нижних петель подвздошной кишки.

Абсорбция витамина В12 кишечной стенкой лимитирована количеством белка – акцептора в эпителиальных клетках слизистой кишечника (в этом отношении может быть проведена полная аналогия с абсорбцией железа, лимитированной количеством белка – апоферритина – в кишечном эпителии). Поэтому поступление в кишечник избыточного количества связанного с внутренним фактором витамина В12 не увеличивает его всасывания.

Дальнейший путь витамина В12 – из кишечника в печень – совершается через кровеносное русло. Уже на уровне капилляров кишечника витамин В12 , освободившись от связи с акцептором, вступает в более прочное соединение с белками плазмы, главным образом с ά1 –глобулином. В12-протеиновый комплекс (протеин – цианкобаламин) откладывается главным образом в печени. Витамин В12, не связанный с ά1 –глобулином, не задерживается в печени и выделяется из организма с мочой. Витамин В12 в печени активирует фолиевую кислоту, переводя ее в более активную форму – фолиновую кислоту, действующую непосредственно на костный мозг.

Согласно современным воззрениям, главной функцией внутреннего фактора является образование с витамином В12 непрочного, стехиометрического (агрегатного) комплекса – протеин – цианкобаламина (соответствующего понятию «антианемический принцип» Касла), недоступного для микроорганизмов, населяющих верхние отделы кишечника.

Секрецию внутреннего фактора – гастромукопротеина – нужно рассматривать как одну из важнейших функций желудка, подчиняющуюся тем же физиологическим нервно-гуморальным влияниям, которым подчиняется секреция всех пищеварительных желез.

Баланс витамина В12 в организме подчиняется общим закономерностям, управляющим обменов витаминов. Дефицит витамина В12 , как и дефицит любого другого витамина в пище, так и вследствие различных моментов эндогенного порядка, сопровождающихся нарушенным усвоением, повышенным потреблением или разрушением витамина В12.

Согласно современным исследованиям, и витамин В12 и фолиевая кислота участвуют в первых двух фазах нуклеотидного обмена в качестве синергистов, воздействуя на различные звенья этого процесса, а именно: витамин В12 участвует в синтезе дезоксирибозидов на базе пуриновых оснований – аденина, гуанина, ксантина, и гипоксантина, тогда как фолиева (фолиновая) кислота участвует в синтезе самых пуриновых и пиримидиновых оснований, в частности урацила, цитозина и тимина.

Нарушение синтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты, развивающееся на почве дефицита витамин В12 , равно как фолиевой кислоты, приводит к нарушению клеточного деления и увеличению размеров клеток. В первую очередь страдают клетки, наиболее активно размножающиеся, в частности клетки кроветворной системы и пищеварительного тракта. Появляются атипические гигантские клетки – гигантобласты и мегалобласты, гигантские полисегментоядерные нейтрофилы, гигантские полиплоидные полисегментоядерные мегакариоциты.

Согласно современным исследованиям, витамин В6 принимает непосредственное участие в процессе гемоглобинообразования на первых стадиях синтеза порфирина. Считают, что витамин В6 играет роль катализатора в образовании важнейшего промежуточного продукта в синтезе протопорфирина – δ-аминолевулиновой кислоты – из глицина и янтарной кислоты. Роль витамина В6 в синтезе гема подтверждается положительными результатами, полученными от применения пиридоксина больным с гипохромной гиперсидеремической («сидерорефрактерной») анемиеей.

Наряду с несомненно доказанной ролью витамина В6 в синтезе гема имеются указания и на лейкопоэтический эффект в виде повышения числа гранулоцитов у больных с нейтропенией, получаемый в некоторых случаях при введении витамина В6.

**ЛЕКЦИЯ № 3**

**ТЕОРИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ. ЛЕЙКОПОЭЗ. ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ. АГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ. ФУНКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ**

**План.**

1. Теория кроветворения. Лейкопоэз.

2. Физиологическая рекуляция лейкопоэза.

2.1 Длительность жизни лейкоцитов in vitro .

2.2. Некоторые факторы, влияющие на перераспределение лейкоцитов.

3. Структура и функции лейкоцитов.

3.1. Нормальная физиология гранулоцитов.

3.2. Нормальная физиология нейтрофилов.

3.3. Нормальная физиология эозинофилов.

3.4. Нормальная физиология базофилов.

3.5. Нормальная физиология моноцитов.

3.6. Сущность фагоцитоза.

3.7. Нормальная физиология лимфоцитов.

1. **Теория кроветворения.Лейкопоэз**

На раннем этапе дифференцировки образуются, как мы уже говорили в предыдущей лекции, из полипатентной стволовой клетки две так называемые коммитированные клетки, одна их которых является предшественницей лимфо- и плазмоцитопоэза, а другая – всех миелоидных элементов, т. е. моноцитарного, гранулоцитарного, эритроцитарного и тромбоцитарного ростков. При этом созревание моноцитов, нейтрофилов, эритроцитов и тромбоцитов осуществляется в костном мозге, а клеток лимфоидного ростка и плазмоцитопоэз – в лимфоидных органах (лимфоузлах, селезенке) и тимусе.

В отличие от эритроцитов, популяция которых является однородной, зрелые лейкоциты представлены пятью типами клеток, различных по морфологическим и функциональным признакам. Это нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты. Подсчет общего числа лейкоцитов дает суммарное количество всех типов клеток, тогда как дифференциальный подсчет – количество каждого типа в отдельности. Повышение числа лейкоцитов – очень частый признак заболеваний, которые относятся к одному из патологических процессов: инфекции, воспалению, злокачественным опухолям. Уменьшение числа лейкоцитов, которое встречается реже, указывает на снижение иммунитета и, таким образом, высокий риск инфекционных болезней.

Лейкоциты крови выполняют в организме различные ***функции***. Фагоцитирующие лейкоциты – нейтрофильные гранулоциты вместе с мононуклеарными макрофагами – составляют неотъемлемую часть защиты организма от инфекции; при значительном снижении этих клеток инфекции протекают тяжело и плохо контролируются антибиотиками. Моноциты и макрофаги служат важным звеном механизма иммунологической защиты, взаимодействуя с лимфоидными клетками в определенных фазах иммунологических реакций.

Как отмечалось раньше, вместе с другими форменными элементами крови лейкоциты происходят от полипотентной (плюрипотентной) стволовой клетки костного мозга. Зрелые лейкоциты имеют ограниченную продолжительность жизни, поэтому необходимо их постоянное воспроизводство. Увеличение продукции лейкоцитов в костном мозге - составная часть нормального (воспалительного) ответа организма на любое повреждение тканей независимо от его причины. Целью воспалительного ответа является ограничение и контроль повреждения, удаление потенциально патогенных факторов (бактерии, вирусы, грибы, простейшие, паразитические черви), начало заживления и восстановления поврежденной ткани. Как главные действующие силы воспалительного ответа лейкоциты должны покинуть костный мозг и попасть в ткани. Хотя, как мы увидим, каждый тип лейкоцитов выполняет свою определенную работу, они взаимодействуют, обмениваясь информацией с помощью химических веществ, называемых цитокинами.

Первой клеткой гранулоцитарного ряда принято считать ***миелобласт***. Поскольку мы рассматриваем миелобласт как родоначальную клетку только по отношению к лейкоцитам миелоидного (гранулоцитарного) ряда, мы вкладываем в эту клетку следующее содержание: ядро – нежное, тонкосетчатое, цитоплазма содержит азурофильные зернышки, что определяет гранулопластическую направленность развития клетки; в миелобласте отсутствует какая бы то ни была специфическая (нейтрофильная, эозинофильная или базофильная) зернистость, что служит отчетливым дифференциальным признаком по отношению к следующей эволютивной стадии – ***промиелоциту***. Необходимо различать три формыпромиелоцитов: нейтрофильный промиелоцит, эозинофильный промиелоцит и базофильный промиелоцит. На этой стадии дифференцировки начинается формирование специфической зернистости.

Следующей ступенью в зернистом ряду лейкоцитов является ***миелоцит***. Миелоцит может быть обозначен как клетка с круглым или овальным ядром, содержащая вполне оформленную специфическую зернистость (нейтрофильную, эозинофильную или базофильную).

Не вызывает никаких сомнений и термин ***«метамиелоцит».*** Как показывает лексическое обозначение этого элемента (слово «мета» по-гречески означает «после», «затем»), метамиелоцит располагается по вертикальному ряду после миелоцита.

В следующем ряду зернистых лейкоцитов располагаются так называемые палочкоядерные нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Это название укоренилось в лабораторной гематологической номенклатуре, хотя оно, конечно, не является точным, ибо едва ли правильно обозначать палочкой ядро подковообразной формы этого типа гранулоцита. Скорее можно говорить о ленточной форме ядра. Ядро выглядит как несколько изогнутая или закругленная ленточка и отличается от ядра сегментоядерного гранулоцита отсутствием сегментов, а от метамиелоцита — узким поперечником. Единственно правильным надо признать термин «сегментоядерные лейкоциты» (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), и этот термин получил всеобщее признание.

Переходим к группе агранулоцитарных клеток крови.

Для лимфоцитов такой зародышевой клеткой является ***лимфобласт*** — первая ступень видовой дифференциации коммитированной клетки. Номенклатура этой клетки, ее морфологический habitus являются общепризнанными. Ядро круглое или овальное, содержится 1-3 нуклеолы, цитоплазма базофильна.

Промежуточная стадия между лимфобластом и зрелым лимфоцитом — ***пролимфоцит***. Пролимфоцит структурно отличается от зрелого лимфоцита более нежным, бледным ядром, нередко с остатками нуклеол, а от лимфобласта — сглаженностью тонкопетлистой структуры хроматина. Учет этого элемента играет важную роль в характеристике сдвигов лимфатической формулы по аналогии с формулой гранулоцитов при хронических лимфо-лейкозах; в понимании элементов детской крови и пр.

Последняя клетка лимфатического ряда — ***лимфоцит***, который может встречаться, как и всякая другая клетка, в макро- и микрогенерации (узкоцитоплазменный, широкоцитоплазменный лимфоцит). Однако ши-рокоцитоплазменные формы могут развиваться и из микрогенераций.

Определено место, занимаемое ***моноцитами*** в схеме кроветворения. Поскольку особыми морфофизиологическими и гистохимическими тестами устанавливается единый тип моноцитов, можно говорить, что моноциты развиваются из другой коммитированной клетки. Стадии развития моноцитов, определяемые в основном по структуре ядра, будут те же, что для миелоидных и лимфоидных клеток: монобласт, промоноцит, моноцит.

Последняя клетка лимфатического ряда – ***лимфоцит***, который может встречаться, как и всякая другая клетка, в макро- и микрогенерации (узкоцитоплазменный, широкоцитоплазменный лимфоцит). Однако широкоцитоплазменные формы могут развиваться и из микрогенераций.

Развитие коммитированной клетки в направлении гранулоцитопоэза происходит следующим образом.

Дифференциация полипотентной клетки приводит к образованию миелобласта. В нормальных условиях каждая такая клетка и миелобласт при делении переходят в следующую стадию, т. е. каждое деление сопровождается созреванием (дифференциацией). Этим и объясняется очень небольшое содержание примитивных клеток в нормальном костном мозгу. Из миелобласта путем простого созревания или созревания с делением образуется промиелоцит, из промиелоцита — миелоцит; микрогенерация миелоцита может развиться путем деления макрогенерации миелоцита. Способностью к пролиферации обладают только молодые клетки. Деление клеток гранулоцитарного ряда заканчивается на миелоцитах. Далее идет созревание клеток без деления. Само собой понятно, что штаммы микрогенераций могут возникать и из более отдаленных клеток, которые дают последовательно микрогенерации промиелоцитов, миелоцитов и т. д. Обычно дочерние генерации гранулоцитов дают в конечном развитии полиморфизацию ядра, но в патологических условиях при ускоренном лейкогенезе эту полиморфизацию могут давать и материнские индивидуумы; из промиелоцитов непосредственно иногда при лейкозах развиваются большие полиморфноядерные лейкоциты.

Лимфоциты в лимфатической ткани образуются из клетки предшественницы лимфопоэза через стадии лимфобластов и пролимфоцитов. Зрелый лимфоцит является законченной клеткой, неспособной аналогично зрелым нейтрофилам к размножению.

Лимфобласт, пролимфоцит, лимфоцит могут иметь макро- и микрогенерации. Малые генерации образуются из макрогенераций путем деления без дифференциации, т. е. из макрогенерации лимфобластов может образоваться микрогенерация их. Однако этот же процесс чаще происходит при одновременной дифференциации элементов в более зрелый вид, — тогда из микролимфобластов могут образоваться микрогенерации пролимфоцитов и лимфоцитов. Но микрогенерация пролимфоцитов и лимфоцитов может происходить непосредственно из микрогенерации лимфобластов.

Каждой клетке в процессе ее индивидуального развития свойственно созревание. Так, из пролимфоцита малого размера может развиваться широкоцитоплазменный пролимфоцит (лимфоцит).

1. **Физиологическая регуляция лейкопоэза**

Вся система кроветворения тесно связана с целостным организмом и находится под сложным регулирующим влиянием нервно-гуморальных и эндокринных факторов. Основное значение в процессе кроветворения в норме и особенно при патологии следует придавать ***исходному состоянию*** органов кроветворения и гуморальным факторам, например, специфическим стимуляторам физиологической пролиферации и дифференциации клеток крови (нуклеиновые кислоты, витамин В12), ***микроэлементам*** (например, железу, меди, кобальту и др.) и т. д. В настоящее время пристальное внимание уделяется участию ***АКТГ и гормонам надпочечников*** в регуляции процессов кроветворения. Гормон передней доли гипофиза — АКТГ — оказывает угнетающее влияние на лимфатическую ткань и стимулирующее — на костномозговое кроветворение. В опытах на крысах, которые находились в состоянии искусственного белкового истощения, изучали изменения гемопоэза под влиянием гормонов. Этими исследованиями было показано, что АКТГ, введенный вместе с кальцием, интенсивно стимулирует физиологическую регенерацию нейтрофилов.

Действие ***кортикостероидных гормонов*** на белую кровь характеризуется снижением количества эозинофилов и лимфоцитов; последнее объясняется цитостатическим действием на лимфобластные элементы. Что касается эозинопенического эффекта, возникающего после введения кортизона (преднизона) и АКТГ, то его следует отнести за счет основного, антиаллергического действия гипофизарно-надпочечниковых гормонов.

Миелотропное действие кортикостероидных гормонов проявляется в ускоренном вызревании костномозговых клеток и выхождении в кровь зрелых гранулоцитов с повышением общего лейкоцитоза до 15 — 20 • 109/л. Однако, согласно многочисленным экспериментальным наблюдениям, ни тотальный экстракт коры надпочечников, ни взятые в отдельности гормоны коры надпочечников не обладают прямым гемопоэтическим действием.

Как показывают многочисленные клинические наблюдения над больными лейкозами и гипопластическими анемиями в разных вариациях гематологический эффект кортикостероидных гормонов сопряжен с тканевым эффектом, выражающимся в усилении дифференцировки различных клеток — фибробластов, миелоидных клеток, в эозинопении и лимфопении.

Четко определено в эксперименте тормозящее влияние кортикостероидов на клеточный митоз. Механизм действия на лимфоидную ткань может быть охарактеризован как литический.

Наиболее ярко выявляется поразительное регулирующее действие кортикостероидов на пролиферацию и дифференциацию патологических клеток при остром лейкозе.

Под влиянием лечения кортикостероидами может наступить полная гематологическая ремиссия с нормализацией костного мозга. При остео- и миелосклерозе в периоде анемического криза кортикостероиды также оказывают литическое действие на молодую фибробластическую ткань и в то же время вызывают усиление дифференциации «застывших» гранулоцитарных и эритропоэтических элементов, в силу чего быстро выравнивается как белое, так и особенно красное кроветворение (анемия исчезает). Далее, при хроническом лимфолейкозе в ряде случаев наступает рассасывание лимфатических узлов и снижение числа лимфоцитов.

Эти клинические факты эффективнее экспериментальных исследований приоткрывают завесу над специфическими патофизиологическими механизмами действия кортикостероидов на кроветворение.

Цикл жизни лейкоцитов будет более всего понятен, если представить его в фазовом плане.

Первая фаза происходит как бы в исходном отделе кроветворения — в начальных очагах кроветворных органов. Здесь локализуются стволовые клетки. Если процесс представить в численных выражениях, то может быть создана простая схема: этот участок представляет вершину треугольника, дальнейшая же площадь его демонстрирует расширение диапазона пролиферации и дифференциации.

Очевидно, пролиферация (деление) на начальных этапах происходит быстро, но главное заключается в том, что на этой фазе долго не задерживаются ранние морфологические формы эритроцитов и лейкоцитов. Резкое увеличение в костном мозгу лейкоцитов объясняется большей интенсивностью лейкопоэза, так как лейкоцит живет 1-9 дней, а эритроцит 80-120 дней. Далее происходит их окончательное формирование, чтобы элиминироваться на периферию. Хотя на этих этапах совершается деление лейкоцитов, но мы не видим множества митозов в костном мозгу — это объясняет нам развитие второго, не менее важного фактора в накоплении лейкоцитов в костном мозгу — медленного их функционального созревания и создания их резервов в результате не столь бурной элиминации на периферию. Запас лейкоцитов в костном мозгу в 40 раз превышает их количество в периферической крови. Этот запас немедленно и легко мобилизуется при воспалительных реакциях, при лейкемоидных состояниях.

В настоящее время точными изотопными методами установлен весь цикл развития лейкоцитов, при этом выявлено, что они в большом количестве отлагаются в тканях — очевидно, ткани являются основой их деятельности. Как образно писал Cartwright, «гранулоцит функционально связан со смертью, а не с выживанием — он умирает в процессе работы, его заставляют умирать в большей или меньшей степени».

Гранулоциты как самые активные участники биохимии обмена, ферментации и фагоцитоза, как бойцы, пребывающие всегда на самых ответственных, фронтальных позициях, в общем, изнашиваются или гибнут в «неравной борьбе».

* 1. **2.1. Длительность жизни лейкоцитов in vitro**

Ориентировка на тканевые культуры для решения вопроса о длительности жизни лейкоцитов имеет крайне относительный характер: многое зависит от среды и условий культивирования. В целом на основании разноречивых литературных данных можно сделать следующие выводы.

Нормальные гранулоциты живут in vitro 1—2 недели, редко — дольше, при этом миелобласты, промиелоциты, миелоциты подвергаются митозам, вначале более частым, в дальнейшем – затухающим. Длительность жизни in vitro сегментоядерных лейкоцитов 2-3 дня. Ретикулярные клетки, лимфоциты и моноциты имеют более длительную продолжительность жизни (они in vivo синтезируют ДНК) и способны к активной митотической деятельности.

* 1. **Некоторые факторы, влияющие**

**на перераспределение лейкоцитов**

Из функциональных явлений, относящихся к лейкоцитарной динамике, можно установить прежде всего пищеварительную лейкоцитарную реакцию. Последняя связана не с изменением реакции костного мозга, а с перераспределением крови и, следовательно, сосудистыми реакциями и их нервно-гуморальной регуляцией.

Следующим условием, влияющим на лейкоцитарную динамику, является мышечная работа. Миогенный лейкоцитоз (иногда до 20-30·109/л) является также следствием перераспределения крови, т. е. результатом сосудистых реакций с элиминацией лейкоцитов из депо – печени, селезенки, костного мозга – в расширенную сеть сосудов периферии.

Миогенный лейкоцитоз, как и пищеварительный, возникает в результате нервнорефлекторных механизмов, но причиной их является накапливающиеся в результате мышечной работы химические продукты.

1. **Структура и функции лейкоцитов**

Лейкоциты являются элементами крови, которые быстро реагируют на различные внешние воздействия и изменения внутри организма. Количество лейкоцитов в крови зависит как от скорости их образования, так и от мобилизации их из костного мозга, а также от их утилизации и миграции в ткани (в очаги повреждения), захвата легкими и селезенкой. На эти процессы, в свою очередь, влияет ряд физиологических факторов, и поэтому число лейкоцитов в крови здорового человека подвержено колебаниям: оно повышается к концу дня, при физической нагрузке, эмоциональном напряжении, приеме белковой пищи, резкой смене температуры окружающей среды.

**3.1. Нормальная физиология гранулоцитов**

Гранулоциты – клетки, в цитоплазме которых обнаруживается зернистость, специфическая для определенного вида клеток: различают нейтрофильную, эозинофильную и базофильную зернистость.

Нейтрофильная зернистость розовато-фиолетовой окраски, чаще пылевидная, обильная, не всегда равномерно заполняет цитоплазму.

Эозинофильная зернистость однородна по цвету, форме и величине, крупная, занимает всю цитоплазму. В зрелых клетках имеет кирпично-розовый цвет (кетовая икра), в молодых эозинофильных лейкоцитах – коричневый и буро-синий оттенок.

Базофильная зернистость чаще фиолетового, реже черного цвета, неоднородна по величине и форме, обычно необильна, располагается на ядре и в цитоплазме.

Установлено, что 60% общего числа гранулоцитов находится в костном мозге, составляя костномозговой резерв, около 40% - в других тканях и лишь менее 1% -в периферической крови. Одна часть (примерно половина) гранулоцитов крови циркулирует в сосудах, другая – секвестрируется в капиллярах (маргинальный гранулоцитарный пул).

Основные места внесосудистой локализации гранулоцитов – легкие, печень, селезенка, желудочно-кишечный тракт, мышцы, почки. Время жизни гранулоцитов в тканях зависит от многих причин и может колебаться от минут до нескольких дней (в среднем около 4-5 дней). Экспериментально показано, что мигрировавшие в ткани клетки обратно в сосудистое русло возвратиться не могут (во всяком случае, в значительном количестве), т. е. тканевая фаза их жизни является завершающей.

В нейтрофилах химическим путем найдены лейкопротеаза, амилаза и трипсин, каталаза. Вообще в миелоидных элементах обнаруживаются оксидаза и пероксидаза, в лимфоцитах – липаза, лизоцим, нуклеаза и катепсин. Наличие в костно-мозговых клетках (гранулоцитах) гликогена, аминокислот - гистидина, аргинина, триптофана, липоидов, плазмаля и др. – показывает, что костно-мозговые и кровяные элементы принимают участие во внутреннем обмене. Высокая ферментативная активность нейтрофилов связана с очищением раны от некроза и созданием определенного состава раневого экссудата.

Некоторые компоненты (дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), кислая фосфатаза, аргинин) локализуются исключительно в ядре, рибонуклеиновая кислота (РНК) – в цитоплазме, но синтез ее находится под контролем ядра. Родоначальные клетки содержат много РНК, но по мере их созревания количество РНК резко снижается.

Очень велико содержание РНК и фосфатидов в микросомах. Sikewitz, вводя животному меченые аминокислоты, констатировал, что белки микросом обнаруживают в синтезе белков.

Цитохром С и цитохромная оксидаза обнаруживаются в базофильных зернах, которые, не содержат ни гликогена, ни липоидных субстанций. Все гранулоциты обладают в выраженной степени щелочной фосфатазой, в то время как лимфоциты и моноциты лишены ее. Щелочная фосфатаза связана с зернистостью, кислая – с ядерной субстанцией.

Лейкоциты потребляют сахар, кислород и другие вещества, причем нейтрофилы – вдвое больше, чем лимфоциты. Это может служить косвенным указанием на большую функциональную активность нейтрофилов. Различные компоненты комплекса витамина В играют важную роль в лейкопоэзе. Так, доказано выраженное стимулирующее лейкопоэз действие фолиевой кислоты при алиментарной нейтропении у обезьян; у крыс фолиевая кислота предотвращает развитие сульфаниламидного агранулоцитоза. Недостаток пиридоксина (витамин В6), наоборот, вызывает у подопытных животных агранулоцитоз. В литературе имеется много сообщений о «нейтрофильном» эффекте при лечении различных форм агранулоцитоза пиридоксином, вводимом внутривенно ежедневно в дозе 50-200 мг.

В сыворотке крови обнаруживается так называемый колониестимулирующий фактор (КСФ), относящийся к α-глобулинам и необходимый для стимуляции колонеобразующей в культуре клетки и последующей дифференцировки гранулоцитов. Повышение уровня колониестимулирующего фактора в крови отмечается при введении эндотоксина, при стрессе, инфекционном мононуклеозе, экспериментальной лейкопении, однако является ли он гранулоцитопоэтином, аналогичным эритропоэтину, в настоящее время не ясно. Регуляторами выработки В-лимфоцитами и сенсибилизированными Т-лимфоцитами колониестимулируещего фактора считают макрофаги и моноциты, которые, возможно, сами могут быть его источником.

Механизмы, контролирующие число гранулоцитов в крови, разнообразны. Экспериментально установлено присутствие в плазме крови во время острой бактериальной инфекции "освобождающего гранулоциты фактора", мобилизирующего гранулоциты из костного депо в циркуляторное русло. Помимо бактериальных продуктов, подобным эффектом обладают гормоны (АКТГ, гидрокортизон), пирогенал, некоторые вакцины, ультрафиолетовое облучение, метаболиты раковой опухоли. Предполагают, что эти факторы стимулируют выход гранулоцитов путем прямого действия на костномозговые капилляры и синусы и таким образом отличаются от описанного выше колониестимулирующего фактора, который усиливает гранулоцитопоэз (продукцию).

Изменение числа лейкоцитов в крови может быть связано также с перераспределением гранулоцитов - перемещением из маргинального пула в циркулирующий, например, после физической нагрузки, введения эпинефрина. За счет маргинального пула (капиллярного депо) достигается лишь кратковременное поддержание постоянного количества гранулоцитов в кровотоке и этот механизм не имеет большого значения при воспалении.

К ингибиторным механизмам гранулоцитопоэза, относятся кейлоны – выделенные из нейтрофилов неспецифические регуляторные субстанции, которые обладают свойством угнетать клеточную пролиферацию гранулоцитов в тканях.

**3.2. Нормальная физиология нейтрофилов**

Составляя 40-70% всех лейкоцитов, нейтрофилы являются их самой многочисленной разновидностью. Зрелый нейтрофил, имеет сегментированное ядро и темно-фиолетовые гранулы в цитоплазме.

Нейтрофильные гранулоциты характеризуются наличием в цитоплазме двух типов гранул: азурофильных и специфических, содержимое которых позволяет этим клеткам выполнять свои функции. В азурофильных гранулах, появляющихся на стадии промиелоцита, содержатся миелопероксидаза, нейтральные и кислые гидролазы, катионные белки (с флогогенными, бактерицидными, пирогенными свойствами, а также способностью вызывать дегрануляцию тромбоцитов), лизоцим. Специфические гранулы появляющиеся на стадии миелоцита, имеют в своем составе лизоцим, лактоферрин, коллагеназу, аминопептидазу (щелочная фосфатаза, которую ранее считали маркером специфических гранул; локализуется в особых вакуолизированных органеллах).

Диаметр нейтрофила около 15 мкм, что в 2 раза больше, чем у эритроцитов. ***Функция нейтрофилов*** – проникновение в ткани и уничтожение вторгшихся туда микроорганизмов. Выйдя из костного мозга, зрелые нейтрофилы только около 8 ч находятся в циркулирующей крови, а остаток своей жизни (5-8 дней) проводят в тканях.

Химические вещества (хемотаксические факторы), выделяемые бактериями и другими клетками (включая базофилы, макрофаги, лимфоциты) привлекают нейтрофилы на место инфекции или воспаления. В тканях нейтрофилы окружают и поглощают бактерии с помощью процесса, названного ***фагоцитозом***. Ферменты и высокоактивные свободные радикалы, которые образуются в гранулах внутри нейтрофилов, убивают оказавшиеся там бактерии. Гной, представляющий собой густую желтую жидкость, которая выделяется в месте воспаления - свидетельство функционирования нейтрофилов. Он состоит преимущественно из мертвых и гибнущих нейтрофилов, фрагментов бактериальных клеток и других клеточных остатков, образовавшихся в процессе борьбы с инфекцией.

**3.3. Нормальная физиология эозинофилов**

Эозинофилы похожи на нейтрофилы по морфологии и функции, хотя их значительно меньше - всего 0,2-5% от общего числа лейкоцитов. Ядро у эзинофила, как и у нейтрофила, сегментированное, но вместо 3-4 сегментов оно обычно состоит из двух. В отличие от темно-фиолетовых гранул нейтрофилов гранулы эозинофилов окрашиваются в оранжево-красный цвет из-за наличия в них эозинофильных химических веществ. Эозинофилы в норме находят в большом количестве в тканях, тканевых жидкостях, подслизистой кишечника, дыхательном аппарате и коже.

Эозинофилы после созревания в костном мозге менее одного дня (возможно 3-4 ч) находятся в циркуляции, а затем мигрируют в ткани, где продолжительность их жизни составляет предположительно 8-12 дней. Существует несколько хемотаксических факторов для эозинофилов, среди которых компоненты комплекса С3, С5 и С567, описанные для нейтрофилов, а также специфический хемотаксический эозинофильный фактор анафилаксии, выделение которого из тучных клеток может быть опосредовано иммуноглобулином класса Е и сходно с выделением гистамина по временным, биохимическим и регуляторным параметрам. Кроме того, на различных моделях показана способность Т-лимфоцитов продуцировать фактор, активизирующий эозинофилы. Гранулы эозинофилов содержат лизосомальные ферменты, в том числе пероксидазу, фосфолипазу Д, арилсульфатазу В, гистаминазу, брадикинины, а также эозинофильные зерна содержат железо. Они нерастворимы в обычных растворителях жира и разведенных щелочах, но растворимы в концентрированных щелочах и кислотах. Эозинофилы резистентны к перевариванию трипсином и аутолитическими энзимами.

Эозинофилы вовлекаются в реакции гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), выполняя при этом регуляторную и протективную функцию, связанные, прежде всего с инактивацией гистамина (гистаминазой), а также медленно действующего вещества анафилаксии (с помощью арилсульфатазы В) и фактора, активирующего тромбоциты (фосфолипазой Д), выделяемых главным образом тучными клетками. В настоящее время подчеркивается роль эозинофилов в межклеточных взаимодействиях (Т-клетки памяти – эозинофилы – моноциты – преплазмоциты) при ГЗТ (гиперчувствительность замедленного типа).

Как и нейтрофилы, эозинофилы способны к фагоцитозу, хотя их роль в поглощении бактерий маловероятна. Вместо этого их целью, как полагают, является уничтожение чужеродного материала, слишком крупного для обычного фагоцитоза. Например, они обезвреживают паразитических червей и вызывают их повреждение, высвобождая ферменты, а затем фагоцитируя продукты распада. Таким образом, их ***главная функция*** – защита организма от вторжения микроорганизмов, более крупных, чем бактерии и вирусы, и макроорганизмов. Эозинофилы присутствуют в месте воспаления, вызванного аллергическими заболеваниями, такими как сенная лихорадка и бронхиальная астма. Высвобождение химических веществ из эозинофилов - составная часть патогенеза аллергических заболеваний.

**3.4. Нормальная физиология базофилов**

Базофилы – самая малочисленная часть гранулоцитов в периферической крови (0,5–1% всех лейкоцитов). Их дольчатое ядро маскируется крупными темно-синими гранулами. Базофилы мигрируют в ткани, где созревают в тучные клетки. Активированные тучные клетки высвобождают много химических медиаторов воспаления, среди которых нельзя не упомянуть хемотаксический фактор, привлекающий нейтрофилы; гистамин, расширяющий сосуды, что приводит к усилению кровотока в пораженной области; гепарин - антикоагулянт, необходимый для начала восстановления поврежденных кровеносных сосудов.

Хемотактическими факторами для базофилов является С3а, С5а, калликреин, лимфокины, освобождаемые активированными Т-лимфоцитами, а также антитела, вырабатываемые В-лимфоцитами.

Продолжительность жизни базофилов 8-12 дней, время циркуляции в периферической крови, как и у всех гранулоцитов, короткое - несколько часов. Установлено, что базофилы (и тучные клетки) содержат на своей поверхности специальные рецепторы для антител класса IgЕ, одна клетка может связать от 10 до 40 тысяч молекул IgЕ. Взаимодействие между антигеном и IgЕ на поверхности базофила (тучной клетки) вызывает дегрануляцию с освобождением медиаторов: гистамина, серотонина, фактора, активирующего тромбоциты, медленно действующего вещества анафилаксии, фактора, хемотаксического для эозинофилов; при этом комплемент не требуется. Анафилактическая дегрануляция базофилов и тучных клеток с быстрым освобождением вазоактивных аминов в окружающую среду лежит в основе реакции гиперчувствительности немедленного типа. Показана роль этих клеток и в гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

**3.5. Нормальная физиология моноцитов**

Моноцит имеет несегментированное округлое или овальное ядро и цитоплазму, обычно лишенную гранул. После короткого периода циркуляции в крови (20-40 ч) эти клетки мигрируют в ткани, где созревают в макрофаги.

Моноциты и мононуклеарные макрофаги в норме обнаруживаются в крови, костном мозге, лимфатических узлах, селезенке, печени, других тканях. Отношение содержания этих клеток в тканях и циркулирующей крови 400:1. Одна четверть всех моноцитов крови составляет циркулирующий пул, остальная часть относится к маргинальному пулу.

Макрофаги в зависимости от места обитания (легкие, брюшная полость, печень) приобретают специфические свойства, позволяющие отличать их друг от друга. В норме обмен макрофагов в тканях происходит медленно, например купферовские клетки печени и альвеолярные макрофаги обмениваются через 50-60 дней. Хотя основной источник макрофагов - циркулирующие моноциты, при некоторых патологических состояниях допускается возможность их репродукции на месте, особенно в легких и печени. Для всех макрофагов, и фиксированных и свободных, характерна высоко выраженная способность к фагоцитозу, пиноцитозу и распластыванию на стекле.

Макрофаги (моноциты) осуществляют фагоцитоз чужеродных частиц, макромолекул, коллагена, клеток крови и гемоглобина, играя в организме роль "мусорщиков". Макрофаги фагоцитируют и убивают бактерии тем же способом, что и нейтрофилы, но они играют и другую важную роль, перерабатывая и представляя чужеродные белки (антигены) Т-лимфоцитам для того, чтобы мог начаться клеточный иммунный ответ.

Способность к фагоцитозу определяет участие нейтрофилов и макрофагов в воспалении, причем нейтрофильные гранулоциты являются главными клетками острого воспаления, а макрофаги рассматривают как центральное клеточное звено хронического воспаления, в том числе и иммунного. ***Участие этих клеток в воспалительной реакции многообразно:*** фагоцитоз возбудителя, иммунных комплексов, продуктов клеточного распада, выделение биологически активных веществ (простагландинов), взаимодействие с плазменными (компоненты комплемента, свертывающая, фибринолитическая, кининовая системы) и тканевыми факторами, образование активных пирогенов, выделение ингибиторов воспаления и т. д. В настоящее время широко рассматривается роль макрофагов в реализации иммунного ответа. Макрофаг вступает в кооперацию с различными классами Т- и В-лимфоцитов и, хотя механизмы этой кооперации не полностью расшифрованы, считают, что макрофаг в этой системе служит для переработки антигена в более иммуногенную форму и удержания его на поверхности, где он доступен для лимфоцитов.

**3.6. Сущность фагоцитоза**

Фагоцитоз – сложный процесс, изучение которого было начато сто лет назад И.И. Мечниковым и продолжается до сего времени. Процесс фагоцитоза можно разделить на ***четыре большие фазы:*** хемотаксис, распознавание, поглощение и переваривание объекта фагоцитоза.

***Хемотаксис*** – направленное движение фагоцитов в очаг воспаления под влиянием хемотаксических факторов. Хемотаксическими свойствами обладают многие продукты экзо- и эндогенного происхождения: вещества, выделяемые бактериями и вирусами, компоненты активированного комплемента (С5а, С3а, С567), активатор плазминогена, калликреин, продукты деградации фибрина, фибринопептид В, факторы самих лейкоцитов (нейтрофилов, ативированных лимфоцитов), продукты тканевого распада. Существуют ингибиторы и инактиваторы хемотаксиса, играющие важную роль в ограничении воспаления, главные из них обнаруживаются в сыворотке (нейтрализаторы хемотаксической активности комплемента, калликреина, активатора плазминогена), но выделяются также нейтрофилами (при фагоцитозе), лимфоцитами (фактор, угнетающий миграцию макрофагов – ФУМ).

Для ***распознавания и последующего поглощения*** имеет большое значение опсонизация объектов фагоцитоза. Опсонины, фиксируюсь на частицах, связывают ее с поверхностью фагоцитирующей клетки и таким образом способствуют процессу поглощения. Основными опсонинами являются компоненты активированного классическим или альтернативным путем комплемента (С3в и С5в) и иммуноглобулины класса G и М, особенно если они специфичны против данного микроорганизма и фиксируют комплимент, при этом Fab-фрагмент иммуноглобулина связывается с микроорганизмом, а Fс-фрагмент со специфическим рецептором на мембране фагоцита (нейтрофилы и моноциты имеют также и поверхностные рецепторы для комплемента).

После прикрепления клетка окружает своими псевдоподиями частицу, концы их смыкаются на ее дистальной стороне и частица оказывается полностью заключенной внутри цитоплазматической мембраны – во вновь сформированной фагоцитарной вакуоли. Движения всевдоподий осуществляется с помощью актинполимерных микрофиламент, являющихся контрактильными структурами клетки. Азурофильные и специфические гранулы нейтрофила и гранулы макрофагов мигрируют к фагосоме, сливаются с ней, выделяя в нее (и за пределы клетки) свое содержимое, - явление так называемой дегрануляции. Поглощение – активный энергозависимый процесс, сопровождается усилением АТФ-генерирующих механизмов – специфического гликолиза в нейтрофилах и окислительного фосфорилирования в макрофагах.

В нейтрофилах существует несколько бактерицидных систем для ***убивания поглощенных микроорганизмов.*** Одна из них тесно связана с "респираторным взрывом", который состоит в активизации гексозо-монофосфатного шунта и повышении потребления кислорода, ведущее к образованию перекиси водорода. Медиатором этих реакций является НАДФН-оксидаза, активность которой повышается одновременно с поглощением. Взаимодействие между образованной перекисью водорода, галидами (йодиды и хлориды), проникающими в фагосому путем диффузии, и миелопероксидазой, освобождающейся при дегрануляции, приводит к образованию бактерицидных продуктов.

Кроме того, в нейтрофиле имеются бактерицидные системы, связанные с активностью основных катионных белков (один из них – фагоцитин, действует и на грамположительную и на грамотрицательную микрофлору) и лизосомальных ферментов, изливающихся в фагосому при дегрануляции, - лизоцима, лактоферрина и кислых гидролаз.

Механизмы убивания в моноцитах и мононуклеарных макрофагах сходны с описанными у нейтрофилов за исключением того, что эти клетки не содержат бактерицидных катионных протеинов и лактоферрина. Кроме того, моноциты и некоторые макрофаги имеют мало миелопероксидазы, а альвеолярные макрофаги не содержат ее совсем (однако имеют каталазу, которая может действовать как миелопероксидаза, катализируя окисление субстратов в присутствии перекиси водорода). Стимулированные макрофаги, например культивируемые в присутствии лимфокинов (фактора, активирующего макрофаги – ФАМ), обладают более высокой поглотительной и бактерицидной активностью, чем нестимулированные.

**3.7. Нормальная физиология лимфоцитов**

Лимфоциты являются главными клеточными элементами иммунной системы организма. Лимфоциты составляют 20-40% от общего числа лейкоцитов, являясь по численности их второй разновидностью. Как и другие форменные элементы крови, они происходят из костного мозга, но часть из них нуждается в дополнительном созревании в тимусе; это тимусзависимые лимфоциты, или Т-лимфоциты, которые составляют около 50-70% циркулирующих лимфоцитов. Большая часть из оставшихся 15-25% являются В-лимфоцитами (название произошло от латинского bursa of Fabricius – органа, где у птиц происходит антителообразование). Развиваются независимо друг от друга после отделения от общей клетки – предшественника лимфопоэза. Одна из отделившихся клеток мигрирует из костного мозга в тимус, где в тимическом микроокружении под влиянием гормоноподобного вещества – тимозина, дифференцируется в Т-клетки, поступающие затем в циркуляцию и периферические лимфоидные органы (лимфоузлы, селезенка, миндалины, лимфатическая ткань кишечника), другая – в костном мозге превращается в В-клетку, потомки которой, как и Т-клетки, мигрируют в кровь и лимфатические органы. Эта стадия дифференцировки из общей клетки-предшественницы лимфопоэза антигенонезависима. Дальнейшая дифференцировка Т-клеток в эффекторные Т-лимфоциты и В-клеток в антителопродуцирующие плазматические клетки зависит от антигена, при этом в процесс вовлекаются другие клеточные элементы (макрофаги, гранулоциты) и неклеточные механизмы (активация комплемента, коагуляция, фибринолиз, кининовая система). Т-лимфоциты и часть В-лимфоцитов находятся в постоянном движении по периферической крови и тканевым жидкостям организма. Уровень функциональной дифференцировки лимфоцитов не всегда можно определить морфологически в световом микроскопе, морфологические отличия свойственны лишь иммунобласту – бласттрансформированному под влиянием антигена лимфоциту.

Есть также еще одна популяция «ни Т ни В лимфоциты», которые называют натуральными (естественными) киллерами или «ноль-клетками». Лимфоциты крови здоровых людей можно разделить на 4 группы:

* большие лимфоциты (около 10-12%);
* малые светлые лимфоциты (73-77%);
* малые темные лимфоциты (около 12-13%);
* лимфоплазмациты (1-2%).

Морфологически Т- и В-лимфоциты у человека неразличимы. Как и нейтрофилы, лимфоциты участвуют в иммунитете (защите от инфекций). В-лимфоциты вырабатывают антитела. Это белки, которые специфически связывают соответствующие чужеродные белки, называемые антигенами. Микроорганизмы (бактерии, вирусы и т. д.) имеют на поверхности специальные белки, которые действуют как антигены. Связывание антителами этих поверхностных антигенов предупреждает проникновение бактерий и вирусов в тканевые клетки. Более того, окруженная антителами бактерия более доступна для фагоцитоза нейтрофилами и макрофагами. Антитела также могут связывать и нейтрализовать бактериальные токсины.

Антитела эффективны вне клетки, они не могут проникнуть внутрь нее, и поэтому бессильны против микроорганизмов, находящихся внутриклеточно. Защита от таких микроорганизмов – задача Т-лимфоцитов.

Т-лимфоциты могут «узнавать» и разрушать клетки, которые заражены микроорганизмами, предотвращая дальнейшее распространение инфекции. Так как все вирусы должны проникнуть в клетку, чтобы размножиться, и многие бактерии тоже паразитируют в клетках, клеточноопосредованный иммунитет, осуществляемый Т-лимфоцитами, важная составная часть защиты организма против инфекций. Т-лимфоциты также способны узнавать и убивать раковые клетки, являясь составной частью защиты организма против злокачественного роста.

Т-лимфоциты ответственны за распознавание чужих антигенов, отторжение чужеродных клеток и собственных клеток, модифицированных антигенами (белками, гаптенами, вирусами), и вызывают реакции клеточного иммунитета. Они делятся на несколько субклассов, которые выполняют различные функции и отличаются биологическими свойствами и маркерами. Непосредственным результатом процесса иммунологического распознавания является возникновение по меньшей мере четырех субклассов Т-клеток:

* ***киллеров***, убивающих чужеродные или собственные клетки-мишени, на поверхности которых в комплексе с аллоантигенами (НLА у человека) представлены чужеродные антигены (вирусы, гаптены и др.);
* ***хелперов*** Т-В, помогающих дифференцировке В-лимфоцитов в антителопродуцирующие клетки;
* ***эффекторов*** гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), выделяющих гуморальные медиаторы (лимфокины), которые изменяют поведение других клеток, вовлекая их в реакцию (фактор активации макрофагов – ФАМ, фактор ингибиции миграции макрофагов – ФИМ, хемотаксические факторы для нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, митогенный фактор и др.), действуют на проницаемость сосудов (кожнореактивный фактор, гистаминстимулирующий фактор), обладают противовирусной активностью (лимфотоксин, интерферон) и т. д.;
* ***супрессоров***, тормозящих иммунный ответ.

В каждой линии Т-клеток – киллеров, хелперов, эффекторов ГЗТ, супрессоров, обнаружены ***клетки памяти***, выявляемые по их способности при повторном контакте с антигеном выполнять соответствующую функцию быстрее и эффективнее, чем при первичном контакте с тем же антигеном. Действие каждого из субклассов Т-лимфоцитов иммунологически специфично вследствие наличия на их поверхности рецепторов, связывающих соответствующий иммуноген. Отличие Т-клеточного распознавания от В-клеточного состоит в том, что, если иммуноглобулиновые рецепторы В-клеток реагируют с самой молекулой антигена, то рецепторы Т-киллеров, Т-хелперов и Т-клеток памяти (за исключением, вероятно, Т-супрессоров) распознают лишь комплекс этого антигена с тем или иным продуктом системы аллоантигенов (НLА), представленных на поверхности живых клеток собственного организма. Особую роль в реакции Т-лимфоцитов на белковые антигены играют макрофаги, обладающие, по-видимому, уникальной способностью комплексировать полипептидную цепь белковых АГ с антигенами (НLА-D) собственной мембраны, причем образованный комплекс и является собственно антигеном для Т-лимфоцитов.

Система В-лимфоцитов также подразделяется на множество мелких функциональных подсистем, способных реагировать с разными антигенами. Подобная специализация (клональная селекция) обеспечивает продукцию около миллиона различных антител. На часть антигенов (так называемые ***тимуснезависимые***) В-лимфоциты отвечают самостоятельно, но большинство других (***тимусзависимые*** АГ) гуморальный иммунный ответ возможен при условии кооперирования В-клеток с Т-клетками (и макрофагами) и получения от Т-лимфоцитов (Т – В-хелперов) дополнительного сигнала.

При первичной встрече с антигеном (первичный иммунный ответ) антителопродуцирующие потомки В-клеток синтезируют вначале (2-4 дня после иммунизации) антитела, относящиеся к IgM , затем (с 4-го по 7-й день), если доза антигена большая, происходит синтез антител класса IgG и в конечной стадии – IgA. Кроме того, при первичном ответе образуется клон В-лимфоцитов, обладающих иммунологической памятью. При вторичной иммунной стимуляции (вторичный иммунный ответ) на большинство антигенов вырабатываются, главным образом, антитела класса IgG.

Функциональная разнородность лимфоцитов при морфологическом сходстве затрудняет изучение их кинетики. Данные о продолжительности жизни лимфоцитов, полученные на основании радиоизотопных методов, противоречивы в связи со способностью этих клеток к рециркуляции (неоднократному переходу из крови в лимфу, затем в ткани и обратно), а также с возможностью меченой ДНК повторно участвовать в митотическом цикле. Тем не менее этими методами было подтверждено существование ***двух популяций лимфоцитов – коротко- и долгоживущих.*** Продолжительность жизни первых около 4 дней, вторых – в среднем около 170 дней, малые лимфоциты при хроническом лимфолейкозе живут от 3 месяцев до 3 лет. Изучение кариотипа лимфоцитов людей с приобретенной хромосомной аномалией после лучевой терапии показало, что некоторые лимфоциты имеют продолжительность жизни 10 лет и более. Короткоживущие формы составляют около 30% всех лимфоцитов периферической крови, долгоживущие – остальную часть. Большинство В-клеток принадлежит к короткоживущим лимфоцитам, а Т-клеток (кроме Т-супрессоров) – к длительноживущим, наибольшую продолжительность жизни имеют клетки памяти.

Методы идентификации разных классов и субклассов лимфоцитов основаны на выявлении клеточных рецепторов – поверхностных мембранных структур, обладающих способностью спонтанно связывать некоторые индикаторные клетки или молекулы. Одновременное определение 2-3 поверхностных рецепторов-маркеров позволяет не только установить принадлежность лимфоцитов к той или иной субпопуляции, но и определить стадию дифференцировки функционально однородной клеточной линии.

Из многих типов маркеров на В-лимфоцитах человека наиболее важными являются связанные с поверхностной мембраной молекулы иммуноглобулинов, выполняющие функцию рецепторов при распознавании антигенов. Большинство В-лимфоцитов несет иммуноглобулиновые детерминанты IgM или одновременно иммуноглобулин IgM и иммуноглобулин IgD; клетки с иммуноглобулином G или иммуноглобулином А составляют около 10% В-клеточной популяции. В процессе дифференцировки происходит смена иммуноглобулинов различных классов на поверхности В-лимфоцитов.

Широко применяемой методикой для идентификации В-клеток по поверхностным иммуноглобулинам является метод иммунофлюоресценции с использованием гетерогенных антител (полученных на кроликах или козах) или их F (ав)2- фрагментов против тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов человека, меченных флюоресцеином. Другим маркером В-лимфоцитов являются рецепторы для С3-компонента комплемента – С3 – рецепторы (для С3b и С3d – компонентов, источником которых служат свежие сыворотки человека и мыши соответственно), а также Fc-рецепторы (главным образом, для Fc-фрагмента иммуноглобулина G, но также для иммуноглобулина М и иммуноглобулина Е).

Для распознавания Т-лимфоцитов используют способность клеток этого класса связывать эритроциты барана и образовывать так называемые Е-розетки (В-клетки, несущие рецепторы к комплементу, образуют розетки с теми же эритроцитами, если они покрыты антителами и комплементом – ЕАС-розетки). Рецептор для эритроцитов барана в виду простоты и доступности проведения теста спонтанного розеткообразования (лимфоциты выделяют в градиенте фиколл-гипака и подсчитывают число лимфоцитов с прикрепленными эритроцитами барана) является основным маркером Т-клеток. На поверхности Т-клеток имеются также рецепторы для неспецифических митогенов (фитогемагглютинина, конканавалина А), что используют для идентификации Т-лимфоцитов в реакции бласттрансформации на данные митогены. Одна часть Т-лимфоцитов (10-12%) имеет подобно В-клеткам рецепторы к IgG (Fcγ), другая (50-70%) – рецепторы к IgМ (Fcµ), которые выявляются по способности лимфоцитов образовывать розетки (ЕА-розетки) с эритроцитами быка, покрытыми антителами разных классов без предварительной инкубации (Тγ-клетки) и при условии предварительной инкубации лимфоцитов в среде с эмбриональной телячьей сывороткой (Тµ-клетки). Тµ и Тγ-клетки различаются и другими свойствами, в частности электрофоретической подвижностью и аффинитетом (прочностью соединения) рецепторам к эритроцитам барана. Fcµ-рецепторы свойственны Т-хелперам, Fcγ – Т-супрессорам. Тγ-клетки, однако, выполняют функцию не только супрессоров, но и киллеров, убивая опухолевые клетки-мишени. т. е. тоже, по- видимому, не однородны.

Лимфоциты человека несут на себе, кроме того, общие лейкоцитарные антигены гистосовместимости (НLА-А, НLА-В, НLА-С) и дифференцировочные, специфические для различных популяций и субпопуляций лимфоцитов антигены: НВLА, Іа-подобные (по названию их структурного и функционального аналога у мышей) или НLА-D (В-клетки), НТLA, ТДА-1, ТДА-2 (Т-клетки). Специфические поверхностные антигены идентифицируются с помощью гетерогенных иммунных сывороток полученных к различным популяциям лимфоцитов здоровых лиц и лейкозных клеток больных, и после длительной и тщательной абсорбции (истощения) этих сывороток различными тканями. Одновременное определение Іа-подобных антигенов и поверхностных иммуноглобулинов (в частности, иммуноглобулин М) позволяет охарактеризовать, например, стадию иммунологического созревания В-клеток, так как Іа-антигены наиболее четко выражены на незрелых В-клетках, еще не несущих поверхностных иммуноглобулинов М, и отсутствуют на активированных В-клетках, находящихся на стадии дифференцировки в плазматические клетки. С помощью указанных методических подходов получены анти-Т-сыворотки и моноклональные гибридомные антитела (синтезированные гибридами мышей, иммунных к Т-клеткам человека), позволяющие различать и разделять функциональные субпопуляции Т-лимфоцитов – пролиферирующие клетки в смешанной культуре лимфоцитов, предшественники киллеров, хелперы, супрессоры, клетки памяти.

Важная особенность Т- и В- лимфоцитов состоит в том, что в отличие от других клеток крови они способны „запомнить” вторгшийся микроорганизм, по этому ответ на следующие заражение происходит сильнее и быстрее. Этот так называемый ***приобретенный иммунитет*** объясняет, почему мы редко повторно болеем одной и той же инфекционной болезнью. Первый контакт обеспечивает иммунитет при повторной встречи с тем же микроорганизмом.

Что касается натуральных киллеров, то предполагают, что к ним принадлежат предшественники Т-, В- лимфоцитов, однако они также, по-видимому, не однородны. Так, на небольшой части лимфоцитов, на которых не определяются иммуно глобулиновые рецепторы и характерные для Т-клеток рецепторы для эритроцитов барана, обнаруживаются Fcγ-рецепторы. Такие «ноль-клетки» с Fcγ-рецепторами, называемые К-клетками, способны оказывать цитотоксическое действие на покрытые антителами клетки-мишени.

Таким образом, из приведенных данных, видно что лейкоциты крови выполняют в организме многообразные взаимосвязанные функции, направленные, прежде всего, на защиту организма от чужеродных влияний. При этом лимфоциты обеспечивают эту защиту, составляя основу специфического иммунитета, гранулоциты, – благодаря, главным образом, фагоцитарной активности (фагоцитоз микробов и уничтожение их с помощью ферментов), моноциты – своим участием в иммунных реакциях, фагоцитозу и бактерицидному действию.

**ЛЕКЦИЯ №4**

**ПЛАЗМОЦИТОПОЭЗ. ТРОМБОЦИТОПОЭЗ. ФУНКЦИИ ТРОМБОЦИТОВ.РОЛЬ НЕРВНО-ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ**

**План.**

1. Плазмоцитопоэз. Морфофизиология плазмоцитов.

2. Морфофизиология мегакариоцитов и тромбоцитопоэз.

2.1. Методы определения тромбоцитов.

2.2. Особенности структуры, формы, величины тромбоцитов.

3. Тромбоцитоз, тромбоцитопения. Определение понятия. Классификация. Причины.

4. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз. Сущность понятия. Компоненты системы гемостаза. Участие тромбоцитов в первичном гемостазе.

5. Роль нервно-гуморальных факторов в регуляции морфологического состава крови.

1. **Плазмоцитопоэз. Морфофизиология плазмоцитов**

Плазмоциты – эффекторные клетки, образуются из В-лимфоцитов, вырабатывают особые защитные белки – иммуноглобулины (антитела), которые поступают в кровь.

У здорового человека плазмоциты присутствуют в костном мозге и лимфатических тканях, реже в периферической крови.

*Плазматическая клетка, плазмоцит*. Плазматические клетки встречаются в нормальном костномозговом пунктате в незначительном количестве, составляя, по данным разных авторов, от 0.1-3%.

На пути развития плазмоцит проходит несколько стадий, которые принято обозначать как *плазмобласт, проплазмоцит и зрелый плазмоцит*.

*Плазмобласт* по существу представляет собой типичную ретикулярную клетку кругло-овальной, иногда грушевидной, хвостатой формы. Размеры ее варьируют от 8-12 мкм (микроформы) до 16-20 мкм (макроформы) в диаметре. Плазмоклеточная направленность клетки только намечается в виде усиленной базофилии цитоплазмы. Ядро, расположенное центрально или эксцентрично, имеет уплотненную (в микроформах) или рыхлую (в макроформах) хроматиновую структуру, иногда с нуклеолами. Контуры узкого ободка цитоплазмы неровные (свидетельство синцитиальной связи этих клеток). Околоядерного просветления нет, нередко отмечается вакуолизация цитоплазмы.

*Проплазмоцит* – округлая клетка 16-25 мкм в диаметре. Ядро может располагаться центрально, но чаще отодвинуто к одному из полюсов. Хроматин сконденсирован в виде глыбок с намечающейся колесовидной структурой (вид "панциря черепахи"), однако ядро ещё довольно рыхлое. Цитоплазма часто неравномерно базофильна вследствие различной примеси ацидофильного вещества, что придает клетке "фиалковый" оттенок. Иногда в цитоплазме видны многочисленные мелкие вакуоли, реже крупные фуксинофильные включения – тельца Рассела. Обычно хорошо выражена околоядерное просветление – архоплазма, содержащая аппарат Гольджи.

Эти незрелые формы плазматических клеток практически не встречаются в нормальном костном мозгу. Их можно видеть только при состояниях гиперплазии ретикуло-плазмоцитарной системы, вызванной иммунизацией хроническими инфекциями (сифилис, туберкулез), при гипернефроме, метастазах злокачественных опухолей или таких заболеваниях, как цирроз печени, коллагенозы.

*Зрелая плазматическая клетка* имеет меньшие размеры – 12-14 мкм, изредка встречаются формы менее 10 мкм в диаметре, иногда нормальные плазмоциты достигают 18-20 мкм. Клетка имеет четкие границы, округлую или овальную форму. Эксцентрично расположенное небольшое ядро отличается характерной плотной, "колесовидной" структурой хроматина. Ядрышек в зрелых клетках нет. Цитоплазма занимает относительно большую площадь и обычно расширяется по направлению к полюсу, противоположному ядру. Она интенсивно базофильно, с фиолетовым оттенком. На периферии некоторых клеток можно видеть розовые участки цитоплазмы. Иногда вся цитоплазма окрашивается в интенсивно розовый цвет. В таких случаях говорят о "пламенеющих клетках" (Flammende Zellen). Большинство клеток содержит в цитоплазме мелкие светлые вакуоли, создающие впечатление " пенистой" или "ячеистой" структуры. Если вакуоли крупные и занимают всю цитоплазму, создается картина так называемой клетки Мотта. Ядро в таких случаях пикнотично; оно располагается центрально, но может быть оттеснено к периферии.

Представляют интерес цитохимические особенности цитоплазмы плазмоцитов. Она богата рибонуклеиновой кислотой (обусловливающей базофилию при обычной окраске и красное окрашивание при окраске метил-грюн-пиронином). Наличие РНК в плазмоцитах было подтверждено путем применения цитоспектрофотометрического метода Касперссона. По мере дифференциации плазматической клетки в ней накапливаются мукопротеины, придающие цитоплазме розоватый оттенок (так называемые пламенеющие плазмоциты ).

Как показали электронномикроскопические исследования, обнаруживаемая в плазматических клетках ячеистая структура (спонгиоплазма), равно как околоядерная зона просветления (архоплазма), представляет собой систему параллельно расположенных, тончайших, толщиной около 80 Å, мембран (пластинок), концентрирующихся большей частью вокруг ядра и митохондрий, анастомозирующих между собой и образующих канальцы с мешковидными полостями шириной от 400 до 800 Å, наполненными гомогенным белковым содержимым. Совокупность этих канальцев составляет организованную форму цитоплазмы, или *эргастроплазму*.

Из таких же, но более тонких, ориентированных в длину гладких двойных мембран и многочисленных пузырьков шириной 600 – 800 Å состоит так называемый аппарат Гольджи, соответствующий по своему местоположению светлой околоядерной зоне – архоплазме. Как эргастоплазма, так и аппарат Гольджи представляет собой клеточные органеллы, ответственные за синтез дифференцированные белковых секретов.

Выраженность эргастоплазмы зависит от функционального состояния клетки.

Электроннооптическое изучение ретикулярных и плазматических клеток показало, что в процессе иммунизации появляется большое количество форм с хорошо развитой эргастоплазмой. Вначале эргастоплазматимческие пространства спавшиеся, содержимого в них мало. На 10-12-й день наблюдается резкое расширение эргастоплазматических пространств (эндоплазматической сети) за счет накопления белкового секрета. Постепенное уплотнение белка и превращение его из золя в гель ведут к образованию телец Рассела.

В некоторых случаях происходит кристаллизация белков в виде тонких игл, видимых в оптическом микроскопе.

В норме в периферической крови плазмоциты присутствуют очень редко.

Плазмоциты в периферической крови можно обнаружить при вирусных инфекциях (корь, краснуха, ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, инфекционный гепатит), длительной персистенции антигена (сывороточная болезнь, сепсис, туберкулез, актиномикоз, коллагенозы, аутоиммунные болезни), состояниях после облучения, новообразованиях.

1. **Морфофизиология мегакариоцитов и тромбоцитопоэз**

Гигантские клетки костного мозга – мегакариоциты – являются родоначальниками кровяных пластинок. Происхождение тромбоцитов из мегакариоцитов костного мозга убедительно демонстрируется наблюдениями, показавшими путем фазовоконтрастной микросъемки культивируемого эксплантата костного мозга весь процесс возникновения кровяных пластинок из гигантских клеток.

Роль гигантских клеток костного мозга как единственных продуцентов кровяных пластинок окончательно доказана электронномикроскопическими, цито- и иммунохимическими методами, методом меченых антител. Путем иммунофлюоресценции удалось доказать существование общих антигенов в мегакариоцитах и тромбоцитах. Как показали исследователи, иммунофлюоресцирующий гамма-глобулин, обладающий специфическими противопластиночными "противочеловеческими" свойствами, вступает с мегакариоцитами и тромбоцитами в реакцию антиген-антитело, что доказывается избирательной флюоресценцией "меченых" кровяных пластинок и гигантских клеток кровяного мозга.

Мегакариоциты развиваются из клетки предшественницы мегакариоцитов путем повторных эндомитозов, приводящих к колоссальной гипертрофии цитоплазмы и полиплоидизму ядра. Промежуточными формами развития гигантских клеток костного мозга являются мегакариобласты и промегакариоциты.

*Мегакариобласт* – клетка округлой формы, сравнительно небольших размеров, ближе всего стоящая к основной родоначальной клетке кровяных элементов. Она характеризуется довольно грубой структурой ядра. Ядро мегакариобласта, состоящее иногда из двух соприкасающихся бобовидных долек, интенсивно окрашено; в нем содержится несколько четко ограниченных нуклеол голубого цвета. Цитоплазма не содержит зернистости, базофильна; иногда от этой базофильной цитоплазмы отшнуровываются отростки, которые дают начало голубым пластинкам.

Следующим этапом развития является промегакариоцит. Эта форма обычно имеет значительно большие размеры, чем мегакариобласт, и отличается крупным, интенсивно окрашенным ядром с тенденцией к некоторому полиморфизму (бухтообразные вдавления, намечающиеся перетяжки и сегментации ядра). Структура ядра более грубая, чем в мегакариобластах; цитоплазма базофильна, зернистости не содержит или же содержит единичные азурофильные зернышки. В промегакариоцитах, так же как и в мегариобластах, наблюдается процесс клазматоза, т.е. отшнуровки цитоплазматических частичек, образующих так называемые голубые пластинки.

В дальнейшем промегакариоцит проделывает последовательные этапы развития, в течение которых ядро приобретает ещё более грубую структуру и становится полиморфным. Более или менее параллельно с развитием ядра протекает и дифференциация цитоплазмы: она постепенно теряет свою базофилию и приобретает красновато-сиреневую окраску вследствие появления обильной азурофильной зернистости, которой придают большое значение в образовании пластинок.

Мегакариоцит - клетка огромных размеров; в среднем её диаметр равен 50-60 мкм, а в некоторых случаях, например при полицитемиях, достигает 80-100 мкм. Ядро мегакариоцита характеризуется крупной величиной; оно полиплоидно и полиморфно, иногда полисегментировано, принимая причудливые формы - корзинки, цепочки, оленьих рогов и т.п. Развитие ядра завершается его фрагментацией и инволюцией через пикноз, рарефикацию и кариорексис.

Ядерно-цитоплазменное соотношение в мегакариоцитах обычно в пользу цитоплазмы: последняя, занимает нередко все поле зрения микроскопа. Исключение представляют собой гигантские клетки, утратившие большую часть цитоплазмы в процессе образования пластинок. Вообще на препаратах стернального пунктата наряду с целыми, хорошо сохранившимися клетками встречаются разорванные в клочья клетки, отдельные ядра или их фрагменты.

Общее количество мегакариоцитов костного мозга человека исчисляется в 130-190 млн. Цикл функционирования мегакариоцита, т.е. количество дней, в течение которых мегакариоцит отшнуровывает кровяные пластинки, составляет в среднем 8 суток.

В нормальных мегакариоцитах можно видеть все последовательные стадии образования пластинок, начиная с накопления азурофильной зернистости в виде кучек по периферии цитоплазмы и кончая процессом отшнуровывания и отделения пластинок.

Впервые Wright (1906) было показано на костном мозгу котят, что образование кровяных пластинок происходит путем отрыва (отшнуровывания) отдельных частичек из псевдоподий мегакариоцитов, проникающих в капилляры костного мозга.

В физиологических условиях процесс отшнуровки пластинок наблюдается в 40-60% всех мегакариоцитов костного мозга. Новообразованные пластинки образуют как бы "жемчужные цепочки", или "хвосты", отходящие от мегакариоцитов. Процесс образования пластинок больше всего выражен в мегакариоцитах с полиморфным ядром или полинуклеарных мегакариоцитах, что указывает на интимное участие клеточного ядра в этом процессе.

Процесс пластинообразования продолжается до тех пор, пока вся цитоплазма мегакариоцита не окажется "разменянной" на пластинки. Подсчитано, что из одного мегакариоцита получается в среднем около 4 тыс кровяных пластинок. При этом сама гигантская клетка превращается в метамегакариоцит – форму, характеризующуюся крупным ядром, окруженным узким цитоплазматическим венчиком, состоящим из новообразованных пластинок. Дальнейшее, по существу инволютивная, фаза развития гигантской клетки заключается в её распаде на отдельные ядерные фрагменты, в некоторых случаях (при лейкозах) появляющиеся в периферической крови.

Для клиники особый интерес представляет взаимосвязь между мегакариоцитами костного мозга и кровяными пластинками периферической крови. Гиперплазия гигантоклеточного аппарата, наблюдаемая в наибольшей степени при полицитемии и так называемой геморрагической тромбоцитемии, характеризуется преобладанием зрелых полиморфноядерных и зернистых форм мегакариоцитов, отличающихся особенно большими размерами (до 100 мкм и более) и весьма деятельных в функциональном отношении, и сопровождается выраженным гипертромбоцитозом в периферической крови.

Увеличенное содержание в костном мозгу мегакариоцитов наблюдается и при хронической форме миелолейкоза и особенно при остеомиелосклерозе. Однако и здесь параллельно с нарушением созревания миелоидных клеток нарушается процесс созревания гигантских клеток: среди последних преобладают юные формы – мегакариобласты и промегакариоциты; одновременно наблюдается повышенное образование пластинок в зрелых мегакариоцитах.

Реактивная гиперплазия костного мозга в целом, сопровождающаяся повышенным образованием пластинок мегакариоцитами, отмечается также при постгеморрагических анемиях.

Количество мегакариоцитов всех типов уменьшено при гипопластических и апластических состояниях костного мозга.

При пернициозной анемии, спру и других В12 (фолиево) - дефицитных состояниях наблюдается сдвиг мегакариоцитов вправо, аналогичный нейтрофильному сдвигу вправо и выражающейся в том, что часть гигантских клеток содержит необычайно полиморфное ядро. Встречаются и двуядерные мегакариоциты; при этом, несмотря на наличие зрелой азурофильной зернистости, мегакариоциты малоактивны; процессы образования пластинок в них замедлены, результатом чего является присущая этим заболеваниям тромбоцитопения.

Тромбоциты, или кровяные пластинки, называемые также бляшками Биццоцеро (в честь детально описавшего их в 1882 г. итальянского ученого Bizzozero),представляют собой наряду с эритро- и лейкоцитами третий форменный элемент крови.

Кровяные пластинки под разными названиями: "globulins" (Donne), "Elementarblaschen" (Zimmerman) – были известны уже с 40-х годов ХIХ века, однако самостоятельность этих элементов и их важная роль в процессах гемостаза и свертывания крови были установлены лишь в 80-х годах после работ Hayem (1878), М.Лавдовского (1883) и др. В отличие от белых и красных кровяных телец, представляющих собой живые (лейкоциты) или лишенные ядер (эритроциты) клетки, кровяные пластинки представляют собой лишь цитоплазматические осколки гигантских клеток костного мозга - мегакариоцитов. По этой причине название "тромбоцит" (от греческого слова "cytos"-клетка) по отношению к кровяным пластинкам человека не совсем правильно. Истинные тромбоциты, представляющиеся ядерными клетками, имеются только у низших позвоночных, в частности у лягушки, - так называемые веретенообразные клетки Реклингаузена.

В нормальных условиях количество кровяных пластинок колеблется между 200-400·109/л. Общее число кровяных пластинок у человека составляет примерно 1,5 триллиона. Вся масса тромбоцитов человеческого организма составляет около 20 мл (две десертные ложки).

* 1. **Методы определения тромбоцитов**

Определение количества кровяных пластинок в 1 л крови в обычной лабораторной практике производится по методу Фонио, основанному на сравнительном подсчете в мазке крови (разбавленном для предотвращения агглютинации кровяных пластинок 14% раствором сернокислой магнезии) количества тромбоцитов по отношению к 1000 эритроцитов. Подсчет производится на интенсивно окрашенном мазке с помощью сетчатого окуляра (или вкладного окошечка).

Существуют и другие методы подсчета количества тромбоцитов в счетной камере с использованием различных красящих и консервирующих жидкостей, а также фазовоконтрастной и люминесцентной микроскопии.

Существует ***метод подсчета тромбоцитов в камере***, при котором кровь разводят в какой-либо консервирующей жидкости, например в 5-7% растворе трилона Б (для предотвращения свертывания крови и агглютинации кровяных пластинок), заполняют камеру и подсчитывают тромбоциты по обычному правилу, описанному выше. Меньшее распространение получили методы определения количества тромбоцитов с помощью ***фазоконтрастной*** и ***люминесцентной микроскопии***. В настоящее время наиболее перспективен метод подсчета с использованием электронно-автоматических счетчиков.

***Электронно-автоматический метод.*** Тромбоциты можно подсчитывать в принципе на любом счетчике частиц типа "Культер" и "Целлоскоп". Существует, кроме того, аппарат "Культер", специально разработанный для подсчета тромбоцитов, который показывает количество пластинок в 1 л крови.

* 1. **Особенности структуры, формы, величины тромбоцитов**

Показано существование в тромбоцитах трех главных структурных зон: периферической (трехслойная мембрана, содержащая рецепторы для коллагена, АДФ, серотонина, эпинефрина, тромбина, фактора Виллебранда; на внешней стороне мембраны расположен аморфный слой из кислых мукополисахаридов и адсорбированных факторов свертывания плазмы крови), зоны "золь-гель" (микротубулы – каналикулярный комплекс, часть которого открыта, т. е. имеет выходы на наружной мембране; микрофиламенты, содержащие контрактильный протеин "тромбостенин", участвующий, как считают, в поддержании дискообразной формы пластинок; от его свойств зависит ретракция кровяного сгустка) и зона органелл (гликогеновые гранулы, митохондрии, α-гранулы, плотные тела, аппарат Гольджи). Гранулы высокой плотности содержат серотонин, адреналин (адсорбируются из плазмы через каналикулярную систему), кальций, неметаболические адениннуклеотиды (АДФ, АТФ), 4 фактор тромбоцитов (антигепариновый) и, возможно, гранулярную часть 3 фактора тромбоцитов; α-гранулы содержат гидролитические ферменты (кислую фосфатазу, β-глюкуронидазу, катепсины), фибриноген тромбоцитов. Для поддержания структуры и функции тромбоцитов необходима энергия, которая поставляется АТФ в процессе гликолиза, а также окислительного фосфорилирования.

В норме 1/3 вышедших из костного мозга тромбоцитов депонируется в селезенке, остальная часть циркулирует в крови, выполняет свои функции в процессах свертывания и регуляции проницаемости сосудистой стенки, подвергается разрушению под влиянием различных причин и в результате старения. Тромбоциты максимально живут 10-12 дней, средняя продолжительность их жизни составляет 6,9±0,3 сут. Ежедневно обновляется 12-20 % общей массы кровяных пластинок в организме. Количество кровяных пластинок в периферической крови у одного и того же индивидуума подвержено большим колебаниям, зависящим от состояния вегетативной нервной системы и сосудистого тонуса.

В патологических условиях кровяные пластинки принимают неправильную форму – овальную, грушевидную, колбасовидную, в виде теннисной ракетки и т.п.

По величине различают: *микро-, нормо-, макро- и мегатромбоциты*.

В нормальных условиях большинство (90-92%, по данным разных авторов) кровяных пластинок имеет диаметр от 1,5 до 3 мкм, в среднем 2-2,5 мкм. К микропластинкам относятся формы,имеющие диаметр менее 1,5-1 мкм, к макроформам – пластинки с диаметром свыше 3-до 5 мкм; мегатромбоциты имеют диаметр в 6-10 мкм, т.е. равный и даже превосходящий размер нормальных эритроцитов.

На основании статистически достоверных данных выделяют, в зависимости от величины диаметра, четыре основные группы кровяных пластинок, составляющих нормальную тромбоцитарную формулу.

По степени зрелости различают (Jurgens и Graupner) юные, зрелые и старые кровяные пластинки. Кроме того, имеются не всегда встречающиеся в крови формы *раздражения и дегенеративные* формы.

*Юные* формы по сравнению со зрелыми формами характеризуются нерезкими контурами, несколько большей величиной, составляющей 2.5-5 мкм в диаметре, выраженной базофилией гиаломера и нежной, необильной азурофильной зернистостью. *Зрелые* формы – наиболее типичные, округлой или овальной формы, с ровными контурами; характеризуются четким разделением на грануломер с хорошо выраженной, красно-фиолетового (при окраске по Романовскому) цвета зернистостью, и гиаломер смешанного голубовато-розового цвета; средняя величина 2-4 мкм. *Старые* формы характеризуются насыщенно фиолетовой окраской грануломера, занимающего всю центральную часть кровяной пластинки, и светло-розовой окраской узкого гиаломера по периферии пластинки. Пластинки как бы сморщены, диаметр их 0.5-2.5 мкм. *Формы раздражения* отличаются большим полиморфизмом и значительной величиной. Встречаются гигантские колбасовидные, хвостатые и тому подобные пластинки, с длинным диаметром – 7-9 и даже 12 мкм. *Дегенеративные* формы или не содержат зернистости (гиалиновые, голубые пластинки), или имеют темно-фиолетовую зернистость в виде комков или мелких осколков (пылинок); встречаются и вакуолизированные пластинки.

Анализ представленных тромбоцитограмм обнаруживает чрезвычайную вариабельность в распределении различных форм тромбоцитов. Сами пределы колебаний "нормальных" процентных соотношений различных форм кровяных пластинок у одних и тех же авторов настолько различны, что на основании этих данных трудно вывести "нормальную" тромбоцитограмму. Можно только отметить, что по данным различных отечественных и зарубежных авторов, большинство (65-98%) кровяных пластинок относится к зрелым формам; прочие формы: юные, старые, атипические – формы раздражения, дегенеративные, вакуолизированные – в нормальных физиологических условиях либо совершенно не встречаются, либо отмечаются в единичных экземплярах.

"Помолодение" тромбоцитограммы или сдвиг влево тромбоцитарной формулы с появлением большего числа юных форм наблюдается при состояниях повышенной регенерации костного мозга, в частности в связи с кровопотерями, гемолитическим кризом, после спленэктомии и т д.

"Постарение" тромбоцитограммы или сдвиг вправо тромбоцитарной формулы с появлением большого числа старых форм рядом авторов рассматривается как признак ракового заболевания.

Формы раздражения присущи тромбоцитопеническим состояниям (болезнь Вергольфа). При миелопроферативных заболеваниях (хронический миелолейкоз в стадии обостения, мегакариоцитарный лейкоз, остеомиелосклероз, полицитемия) в периферической крови наряду с формами раздражения встречаются "тромбобласты ", представляющие собой фрагменты ядер мегакариоцитов, окруженные цитоплазмой с отшнуровывающимися пластинками.

Новые данные в отношении структуры кровяных пластинок и их морфофизиологии получены при помощи новых методов исследования – *фазовоконтрастной и электронной микроскопии*.

При рассматривании тромбоцитов в электронном микроскопе они представляются звездчатыми, паукообразными образованиями с нитевидными отростками – псевдоподиями.

При помощи электронной микроскопии удалось установить, что грануломер состоит из многочисленных гранул овальной или круглой формы величиной от 240 Å (= 0.024 мкм до 0.2 мкм Различают α-, β-, γ- и δ-гранулы.

α-Гранулы составляют большую часть гранул грануломера; их считают производными митохондрий, в них содержится фактор 3 пластинок, являющийся липопротеидом.

β-Гранулы относят к митохондриям вследствие наличия в них типичных внутренних структур – крист. Последние хорошо различимы при электронномикроскопическом исследовании ультратонких срезов кровяных пластинок.

γ-Гранулы связывают с так называемым внутриклеточным аппаратом Гольджи. γ-Гранулы морфологически неоднородны, они состоят из пузырьков, вакуолей, канальцев, составляющих подобие эндоплазматической сети.

δ-Гранулы овальной формы, в них содержатся весьма контрастные зерна, являющиеся, по-видимому, компонентами железосодержащего пигмента ферритина.

В настоящее время установлено, что большинство пластиночных факторов свертывания крови локализовано в грануломере.

Гиаломер также неоднороден – он состоит из множества переплетающихся между собой волоконец. Из этих волоконец и образуются отростки и псевдоподии тромбоцитов.

Появление цитоплазматических отростков в кровяных пластинках, представляющихся in vivo в циркулирующей крови в виде кругло-овальных или несколько угловатых образований, свойственно нормальным, активным формам, участвующим в свертывании крови. Появление отростков зависит от свойств стабилизирующей среды; оно замедлено в гепаринизованной крови, в хелатоне (трилоне Б, используемом для лейкоконцентрации) и ускорено в физиологическом растворе (0.85 %) хлористого натрия и цитрате натрия.

Менее активные формы, так называемые формы покоя, сохраняют in vitro кругло-овальную форму, не выпуская отростков.

При дальнейшем наблюдении in vitro кровяные пластики начинают распластываться. При этом площадь каждой взятой в отдельности кровяной пластинки увеличивается во много раз по сравнению с исходными размерами (до 30-40 мкм).

Электронномикроскопические исследования показали, что тромбоциты обладают *мембраной* толщиной около 45 Å. О роли гиаломера и грануломера высказываются различные мнения. Большинство авторов, изучавших в фазовоконтрастном микроскопе последовательные изменения тромбоцитов в процессе свертывания крови, считают, что грануломер (хромомер) является носителем тромбопластических свойств пластинок, а гиаломер – ретрактильных свойств.

Являясь безъядерными осколками гигантских клеток костного мозга, кровяные пластинки выполняют важнейшие биологические функции, в первую очередь в процессе гемостаза, благодаря содержащимся в них многочисленным ферментам.

Физиологическая активность кровяных пластинок, в первую очередь в процессах гемостаза, связана с содержащимися в них ферментами.

В литературе указывают на существование в кровяных пластинках 49 ферментов.

Благодаря ферментам в тромбоцитах осуществляется процессы как анаэробного (цикл Эмбдена-Мейергофа), так и аэробного (цикл Кребса) гликолиза ("дыхания") и ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в условиях анаэробиоза. Тромбоциты не в состоянии включать аминокислоты, что говорит об их неспособности к синтезу белка.

В процессе свертывания крови АТФ расщепляется и быстро – в течение 30 мин – исчезает на 80-90%. При отсутствии свертывания крови АТФ держится на том же уровне.

В тромбоцитах обнаружены также эстеразы, кислая фосфатаза, глюкуронидаза, апираза, холинэстераза, протеазы, пероксидазы, амилаза, дипептидаза, фосформоноэстераза, пирофосфатаза и другие ферменты.

Кровяные пластинки человека обладают групповой специфичностью, соответствующей групповой специфичности эритроцитов. Достоверно установлено наличие в тромбоцитах антигенов (агглютиногенов) А, В и D (системы резус). Не исключается возможность того, что указанные антигены адсорбируются кровяными пластинками из плазмы. Групповая специфичность кровяных пластинок (как по системе АВО, так и по системе (резус-фактора) должна быть учитываема при переливаниях *тромбоцитной* массы.

Поддержание в физиологических условиях нормального количества тромбоцитов в крови возможно благодаря наличию регуляторных механизмов. Гуморальные стимуляторы (тромбопоэтины) и ингибиторы тромбоцитопоэза (тромбоцитопенины) выявлены в эксперементальных и клинических условиях (при тромбоцитопениях различного характера, в крови здоровых лиц), однако относительно их природы, места образования и свойств единого мнения нет. Очевидно роль селезенки в регуляции тромбоцитопоэза, как и гемопоэза вообще.

1. **Тромбоцитоз, тромбоцитопения. Причины**

***Тромбоцитоз*** – увеличение числа тромбоцитов выше, чем 400·109 в 1 л крови, бывает первичным (является результатом первичной пролиферации мегакариоцитов, редко изолированной, а чаще как часть миелоидной метаплазии костного мозга) и вторичным (возникает на фоне какого-либо заболевания). Вторичный тромбоцитоз (реактивный) обычно не столь выражен, как первичный, реже осложняется тромбозом или кровотечением (появление кровотечений-носовых, желудочно-кишечных, объясняют функциональной неполноценностью тромбоцитов и нарушением образования протромбиназы) и исчезает при устранении причины (выздоровлении, улучшении).

Количество кровяных пластинок *возрастает* при состояниях возбуждения симпатической нервной системы (чревного нерва), после введения адреналина, физических напряжений (*"тренинг-тромбоцитоз"* спортсменов), при травмах с размозжением мышц (*"миогенный" тромбоцитоз*). На основании экпериментальных данных подобные тромбоцитозы возникают в связи с выбросом в периферическую кровь кровяных пластинок из резервуара – селезенки (у спленэктомированных животных при аналогичных условиях тромбоцитоза не наблюдается). Указанные сдвиги носят чисто перераспределительный характер.

*Тромбоцитозы реактивного характера* наблюдаются при асфиксии, травмах, ожогах, гемолитических кризах, после кровотечений, в периоде выздоровления после инфекционных заболеваний, в послеоперационном периоде после денервации синокаротидной зоны и особенно после операций спленэктомии. «Аспленический» послеоперационный тромбоцитоз достигает максимума обычно на 7-14-й день. В этот период наиболее велика возможность возникновения послеоперационных сосудистых тромбозов и вторичных кровотечений в связи с разрывом затромбированных сосудов и вторичным снижением числа кровяных пластинок.

Наиболее частые случаи тромбоцитоза представлены в табл. 5

**Таблица 5.** Тромбоцитозы

|  |  |
| --- | --- |
| Основные группы | Клинические формы |
| ПервичныеВторичные | Эритремия, хронический миелолейкоз, миелофиброзОстрый ревматизм, ревматоидный артрит, язвенный колит, туберкулез, цирроз печени, остеомиелит, амилоидоз, острое кровотечение, карцинома, лимфогранулематоз, лимфома. После спленэктомии (как правило), больших хирургических операций (иногда), в ответ на введение винкристина. |

Тромбоцитоз как часть миелопролиферативного синдрома (эритремии, хронического миелолейкоза, миелофиброза) может быть очень выражен, обычно стоек и сочетается с лейкоцитозом, а при эритремии – также с эритроцитозом. В случаях, когда тромбоцитопоэз превалирует и тромбоцитоз является главным компонентом синдрома, иногда применяется термин "эссенциальная" тромбоцитемия (однако этот термин не оправдан).

***Тромбоцитопения* –** снижение числа тромбоцитов в крови менее 180·109/л отмечается при угнетении мегакариоцитопоэза, нарушении продукции тромбоцитов. Тромбоцитопения наблюдается при спленомегалии, повышенной деструкции и/или утилизации тромбоцитов.

К тромбоцитопениям распределительного характера относятся и тромбоцитопении после парентерального введения белка, гистамина, туберкулина (проба Декгвица).

Физиологическое снижение кровяных пластинок за счет повышенного тонуса блуждающего нерва может наблюдаться во время сна, после принятия пищи. Физиологическими являются и закономерные колебания количества тромбоцитов, наблюдающиеся у женщин в связи с менструальным циклом: снижение в предменструальный период (считая со дня овуляции) и возрастание до верхних границ нормы в послеменструальный период.

Более стойкий характер носят тромбоцитопении при лекарственных, радиационных и других интоксикациях, а также при иммуноагрессивных заболеваниях и патологии системы крови (лейкозы), сопровождающихся геморрагическим синдромом.

О механизмах тромбоцитопении и наиболее частых клинических её формах будет рассмотрено в последующих лекциях.

1. **Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз**

***Гемостаз*** – один из важнейших гемостатических механизмов, направленных на поддержание целостности сосудистой стенки, предупреждение и остановку кровотечения.

Система гемостаза включает в себя несколько компонентов: форменные элементы крови (главным образом тромбоциты), сосудистую стенку, плазменные факторы свёртывания и противосвёртывания. В организме эти факторы находятся во взаимосвязи, механизм которой сложен и зависит от многих условий: размера и характера повреждённого сосуда, гемодинамики, коагуляционных свойств тромбоцитов и т д.

Тромбоцитам принадлежит важная роль в поддержании нормальной структуры и функций стенки микрососудов и в первичной реакции крови на травму сосуда.

Электронно-микроскопически и ауторадиографически показано, что тромбоциты находятся в тесном контакте с эндотелием микрососудов, периодически поглощаясь им. Без этого контакта невозможно поддержание нормальной жизнедеятельности эндотелиальных клеток. Лишенные тромбоцитарной «подкормки», они быстро подвергаются дистрофии и начинают пропускать через свою цитоплазму эритроциты. Ломкостью микрососудов и диапедезом эритроцитов через капилляры объясняют микроциркуляторный (петехиальный) тип кровоточивости при тромбоцитопении.

Участие тромбоцитов в первичном гемостазе определяется их способностью прилипать к субэндотелиальной поверхности сосудистой стенки у места повреждения (адгезия), подвергаться биохимическим и структурным изменениям, высвобождая содержимое своих гранул (реакция освобождения) и склеиваясь друг с другом (агрегация).

***Адгезия*** тромбоцитов возможна лишь к повреждённому эндотелию при контакте с соединительной тканью, главным образом коллагеном, и является мембранным процессом, связанным с Z-потенциалом тромбоцитов (группы отрицательно заряженных сиаловых кислот на мембране с положительными заряженными аминогруппами коллагена). Важную роль в адгезии тромбоцитов играют двухвалентные катионы и фактор Виллебранда.

Еще до взаимодействия с соединительной тканью тромбоциты претерпевают структурную перестройку, утрачивают дисковидную форму и превращаются в звездчатые образования с многочисленными псевдоподиями, что позволяет им лучше приклеиваться к субэндотелию и друг к другу.

Следующими этапами образования гемостатической пробки, тесно связанными во времени с адгезией, являются ***агрегация и реакция освобождения тромбоцитов.*** Стимулирующим агрегацию тромбоцитов действием обладают АДФ, тромбин, коллаген, адреналин, эндотоксины, вирусы, комплексы АГ—AT. Большинство агрегирующих агентов проявляют свое действие, связываясь с рецепторами (гликопротеидами) на мембране тромбоцита. *Главный стимулятор агрегации — АДФ*, источником которого служит поврежденная сосудистая стенка (эндотелий), разрушенные эритроциты и тромбоциты, выделяющие АДФ во время реакции освобождения. *Вторым важным агрегирующим агентом* является тромбин, вызывающий агрегацию в дозах, значительно меньших тех, которые необходимы для свертывания крови. Следы тромбина, образовавшиеся при активации внешнего или внутреннего механизма гемостаза, недостаточные для формирования фибрина, резко ускоряют агрегацию тромбоцитов, усиливают освобождение АДФ и других пластиночных факторов, способствующих уплотнению тромбоцитарной пробки.

Изменение формы тромбоцитов и ретракция кровяного сгустка происходят при участии актомиозиноподобного контрактильного белка – тромбостенина. Тромбостенин обладает АТФ-азной активностью и сокращается за счет энергии макроэргической фосфатной связи, освобождающейся при расщеплении АТФ в присутствии двухвалентных ионов (Са++ и Mg++).

***Реакция освобождения*** является активным секреторным процессом и состоит в перемещении содержимого клеточных органелл в расширившуюся каналикулярную систему с последующим выталкиванием его за пределы тромбоцита (без повреждения мембраны и разрушения клетки). Освобождение может протекать в один или два этапа в зависимости от силы и длительности действия индуцирующего агента. В начале происходит выделение содержимого плотных гранул — реакция освобождения I (АТФ; АДФ; адреналин, серотонин — вазоконстрикторы; кальций; 4 фактор тромбоцитов, нейтрализующий гепарин; гранулярная часть 3 фактора тромбоцитов — фосфолипида, участвующего в свертывании крови), затем, если стимул достаточно активен, процесс продолжается и высвобождается содержимое α-гранул — реакция освобождения II (фибриноген, β-глюкуро-нидаза, β -галактозидаза, арилсульфатаза, катепсины). Выделение АДФ и других факторов в процессе реакции освобождения способствует дальнейшей агрегации тромбоцитов (самоускоряющийся процесс), которая при достаточно высокой концентрации этих веществ может стать необратимой.

Регулирующая роль в агрегации и реакции освобождения кровяных пластинок принадлежит циклической АМФ (цАМФ): снижение ее уровня в тромбоцитах способствует агрегации, повышение — угнетает агрегацию и ведет к дезагрегации. Уровень цАМФ определяется активностью аденилциклазы, катализирующей превращение АТФ в цАМФ, и специфической фосфо-диэстеразы, гидролизующей цАМФ в АМФ. Агенты, стимулирующие активность аденилциклазы (простагландины Е1, и D2, персантин) или угнетающие активность фосфодиэстеразы (папаверин, эуфиллин), препятствуют агрегации; вещества, ингибирующие аденилциклазу (простагландины Е2, F2, тромбин, адреналин, эпинефрин) или повышающие активность фосфодиэстеразы, способствуют агрегации. Тромбоцитарные простагландины (ПГ), образующиеся под влиянием коллагена и тромбина из арахидоновой кислоты при воздействии фермента циклооксигеназы на тромбоцитарной поверхности, рассматривают в настоящее время как основные модуляторы регуляторных механизмов, связанных с аденилциклазой. Из промежуточных продуктов биосинтеза простагландинов — циклических эндоперекисей (ПГG2 и ПГН2) синтезируется сильный агрегирующий агент – тромбоксан А2, обладающий, кроме того, суживающим действием на артериальные сосуды.

В микросомальной фракции интимы кровеносных сосудов содержится фермент, превращающий циклические эндоперекиси в простациклин (ПГІ2). Простациклин ингибирует процесс агрегации тромбоцитов и является активным вазодилятатором. Предполагают, что соотношение между тромбоксангенерирую-щей системой тромбоцита и простациклинобразующей системой эндотелия сосудов имеет важное значение в регуляции тромбоцитарной агрегации и связанной с ней реакции освобождения.

В процессе агрегации и формирования тромбоцитарной пробки осуществляется участие тромбоцитов в свертывании крови. В тромбоцитах обнаружено большое число компонентов, необходимых для свертывания. Часть из них адсорбируется тромбоцитами из плазмы крови и концентрируется либо внутри пластинок (серотонин, адреналин), либо на их поверхности, образуя «плазматическую атмосферу» (толщина около 50 нм). Для некоторых факторов, например, фактора Виллебранда, на тромбоцитах имеются специфические рецепторы. Из собственно тромбоцитарных факторов для свертывания крови имеет наибольшее значение тромбоцитарный (пластиночный) фактор 3 — тромбоцитарный фосфолипид, входящий в состав оболочки тромбоцита и его гранул, в контакте с которым ускоряется активация и происходит взаимодействие плазменных факторов свертывания. Из других пластиночных факторов для процесса свертывания крови важны 4-й фактор (антигепариновый), фибринопластический компонент, повышающий чувствительность фибриногена к тромбину, и тромбостенин, с которым связаны (см. выше) изменения формы тромбоцитов и ретракция кровяного сгустка.

Роль тромбоцитов в гемостазе отражена на рис. 2

**Рис. 2**



Участвуя в процессе свертывания крови, тромбоциты с одной стороны обеспечивают каталитическую поверхность для взаимодействия плазменных факторов свертывания, с другой — защищают активированные факторы от действия ингибиторов.

1. **Роль нервно-гуморальных факторов в регуляции**

**морфологического процесса**

Постоянство морфологического состава крови обеспечивается состоянием динамического равновесия процессов кровообразования и кроворазрушения. Изменения морфологического состава крови в физиологических и патологических условиях, носящие реактивный характер, в значительной степени зависят от состояния барьерной функции костного мозга, а также от перераспределения форменных элементов крови благодаря игре вазомоторов, подчиняющихся вегетативной иннервации.

*Нервно-гуморальная* регулирующая кроветворение (и кровораспределение) система состоит из нервной части, включающей гипоталамическую область, к которой относится и нейрогипофиз, и эндокринной части, включающей гуморальные факторы «парагормонального» характера (медиаторы, витамины).

Пути прохождения центробежных гемопоэтических стимулов хорошо изучены. Нервные волокна, проводящие гемпоэтические импульсы из межуточного мозга, рождаются – в паравентрикулярном ядре, спускаются в шейный и грудной отделы спинного мозга, откуда выходят и, направляясь к печени, вступают в состав обоих чревных нервов. Таким образом, чревные нервы являются проводниками центральных импульсов, мобилизующих гемопоэтические факторы, поступающие из печени в костный мозг гуморальным путем.

*Вопросы нервно-гуморальной регуляции лейкоцитокинетики*.

Установлено, что так называемые спонтанные и периодические колебания количества лейкоцитов в периферической крови объясняются и приемом пищи, и мышечной работой (например, даже движениями), и действием таких экзогенных факторов, как тепло, холод, действием эмоций и результатом естественных эндогенных циклов, свойственных любому организму. Последние играют важнейшую роль в более сложных реакциях крови и кроветворных органов. Доказав наличие афферентной иннервации кроветворных органов и проведя ряд экспериментов, В. Н. Черниговский и А.Я. Ярошевский, а также В.Г.Вогралик и др. показали значение *следующих моментов* в ее осуществлении:

а) корковой регуляции в реакциях крови;

б) корково-подкорковых взаимоотношений в этой же регуляции;

в) висцеральной (симпатико-вегетативной) нервной системы в реакциях крови;

д) рефлекторных влияний на реакции крови, исходящих из внутренних органов.

Процессы эти сложны, взаимосвязаны, но одно важно подчеркнуть. Кора головного мозга играет адаптивную, общую регулирующую роль, непосредственные же спонтанные рефлекторные реакции возникают на уровне «нижнего этажа» нервной системы. В основном они связаны с игрой симпатико-вегетативной системы, в свою очередь регулируемой гуморальными факторами, возникающими эндогенно или под влиянием неспецифических (тепло, холод, физическая и эмоциональная нагрузка) и специфических (например, инфекции, химические яды, радиация) факторов среды. Нельзя отрицать роли нервнорефлекторного звена в раздражении органов кроветворения. Совершенно ясно, например, что если реакция на повышенный эритропоэз появляется непосредственно вслед за потерей крови, значит, здесь действуют факторы рефлекторного раздражения. Однако рефлексы возникают не спонтанно, не первично от нервной системы, не от регулирующей «инициативы» коры, а под влиянием гемопоэтина, количественно увеличивающегося в плазме вследствие кровопотери. Реализатором нервных импульсов являются гуморальные факторы — медиаторы (для системы блуждающего нерва — ацетилхолин, для симпатического отдела нервной системы — адреналин, катехоламины). Экспериментально доказано, что избыток ацетилхолина угнетает костный мозг, а адреналин способствует стимуляции лейкоцитоза.

В еще более широком плане должны быть трактуемы воздействия внешних специфических факторов на систему крови. Здесь надо, прежде всего, различать:

1) непосредственное специфическое действие их на клетки крови — например, миелотоксических факторов с образованием в организме окислителей, обладающих высокой активной способностью, — гипероксида, перекиси водорода ионизирующих лучей, свободного хлора, самостоятельных окислителей — бензола, мышьяка и т.д.;

2) действие специфических инфекций, вызывающих большей частью определенные реакции крови, — лейкоцитоз, лейкопению, нейтрофилез, моноцитоз, лимфоцитоз (например, инфекционный мононуклеоз, инфекционный лимфоцитоз), а также действие фармакологических препаратов (к последним относятся адреналин, вызывающий лейкоцитоз; ваготропные средства, вызывающие лейкопению; атропин, снижающий эозинофилию и др. Указанная вторая группа реакций носит преходящий характер.

В ряде случаев (например, при некоторых инфекциях) происходит сочетание перераспределительной (рефлекторной) и истинной миелопролиферативной реакции, связанной с иммуногенной мобилизацией кроветворных органов, в других случаях, напротив, отмечается угнетение пролиферации в сочетании с миелопарезом (брюшной тиф); наконец, при действии симпатико- и ваготропных средств речь идет большей частью о рефлекторно-распределительных функциональных состояниях. Само собой разумеется, что характер реакций системы крови, даже органических, может меняться или колебаться в зависимости от наслоения функциональных факторов, связанных с особенностью реакции нервной системы больного. Однако основной процесс, связанный со спецификой внешнего раздражителя, будет большей частью у всех больных однотипен: крупозная пневмония и пиогенный сепсис, как правило, вызывают нейтрофильный лейкоцитоз и лишь в порядке исключения — лейкопению; брюшной тиф и бруцеллез, как правило, вызывают лейкопению и лишь в порядке исключения — парадоксальные (временные) реакции лейкоцитоза.

В заключение укажем в общих чертах на функцию системы крови, заключающуюся в выполнении ею транспортной роли и в участии в обмене веществ организма.

Эта функция понятна во всей своей масштабности и дифференцированности: вечно движущиеся клетки крови омывают все органы и ткани и переносят бесчисленные химические факторы, управляющие обменом веществ сложного организма.

На примере переноса кислорода нетрудно убедиться, какую жизненную основную функцию в организме выполняют эритроциты, по справедливости являющиеся для всего организма микролегкими. Перераспределительные реакции в системе крови в значительной мере связаны с физиологической или патофизиологической активизацией тех или иных органов и систем: акт пищеварения вызывает приток крови к органам пищеварения, физическая нагрузка — к мышцам, воспаление — к больному органу, инфекция — мобилизацию иммуногенного лейкоцитоза, фагоцитоза и т. д.

Влияние *гормонов* на кроветворение, в частности на эритропоэз осуществляется гуморальным путем.

Большое внимание уделяется роли *гипофизарно-надпочечниковых* гормонов в регуляции кроветворения. Экспериментально доказано влияние гипофизэктомии, снижающее поглощение Fe59 костным мозгом.

Влияние на гемопоэз гипофиза в целом подтверждается поразительными результатами, полученными у некоторых больных с апластической анемией (невыясненной этиологии) при помощи имплантации целого мозгового придатка.

Влияние *гипофизарных* расстройств на эритропоэз осуществляется различными путями. Если полицитемию, наблюдаемую при опухолях гипофиза, можно объяснить непосредственно стимулирующим влиянием гипофизарно-межуточномозговых центров на костный мозг, то анемия, наблюдаемая при гипофизарной недостаточности, должна быть связана с общим расстройством всех жизненных функций организма и, в частности, с нарушением функций пищеварительного тракта по выработке и усвоению гемопоэтических веществ.

Участие *надпочечников* в регуляции *эритропоэза* вытекает из клинических и экспериментальных наблюдений.

Доказано, что однократная инъекция 25 мг кортизона вызывает незначительное и кратковременное повышение количества гемоглобина и эритроцитов, тогда как длительное применение этого гормона в части случаев приводит к эритроцитозу.

Известна также мобилизующая тканевые резервы железа роль кортикостероидных гормонов.

Существование гипохромной железодефицитной анемии при аддисоновой болезни и, напротив, появление эритроцитоза при опухолях ЮГА надпочечников при маскулинизирующих опухолях яичников надпочечникового происхождения свидетельствуют в пользу участия надпочечников в регуляции эритропоэза.

Активирующее эритропоэз влияние щитовидной железы осуществляется непрямым путем, через усиление кислородного дыхания тканей, оказывающее стимулирующее влияние на костный мозг. Экспериментально доказан снижающий утилизацию радиоактивного железа (Fe59) эффект тиреоидэктомии. Напротив, введение морским свинкам тироксина, тотального экстракта щитовидной железы сопровождается развитием эритроцитоза.

Значение щитовидной железы как активатора эритропоэза подтверждают и клинические наблюдения. Известно, что при тиреотоксикозе отмечается тенденция к эритроцитозу; напротив, после тиреоидэктомии и при микседеме наблюдается малокровие (так называемая *тиреопривная анемия*).

Клинические наблюдения дают основания признать стимулирующее действие андрогенов (*тестостерона*) на гемопоэз. Разительный антианемический эффект массивной тестостеронотерапии достигается при анемии, наблюдаемой преимущественно у женщин, страдающих эндокринопатиями (микседема, инфантилизм, адипозогенитальная дистрофия). Что касается анемии при костных метастазах рака молочной железы, то в этих случаях терапевтический эффект тестостерона обусловливается рассасыванием костномозговых метастазов.

Эстрогены (*фолликулин*) в больших дозах угнетают костный мозг. Известно также, что физиологически активный фолликулин в организме связывает тканевые резервы аскорбиновой кислоты, в результате чего может нарушиться депонирование железа (в виде железоаскорбинового комплекса). Следовательно, фолликулин обладает не гемопоэтическим, а скорее анемизирующим действием. Противоположный эффект в смысле восстановления эритропоэза женский половой гормон оказывает только в случаях анемии, наблюдающейся у мужчин при метастазах рака предстательной железы в костный мозг.

Интенсивность эритропоэза изменяется под влиянием и других факторов эндо- и экзогенного порядка. Понижение парциального давления кислорода (в условиях разреженного воздуха или в барокамере), выключение селезенки (спленэктомия), гипоксические состояния (застойные явления в малом круге кровообращения при сердечно-легочной недостаточности), сопровождаются временным или постоянным повышением эритропоэза.

Напротив, повышение парциального давления кислорода (в условиях барокамеры), гиперспленизм, гипотиреоз, алиментарная недостаточность, гиповитаминозы, инфекционно-токсические факторы, эндогенные интоксикации (азотемия) угнетают эритропоэз и способствуют развитию анемии.

Происходящее при кровяном кризе (острая кровопотеря, гемолиз) переключение нормального ритма эритропоэза на более интенсивный, выражающийся в ускоренной пролиферации и дифференциации эритробластов костного мозга, свидетельствует о наличии специального компенсаторного механизма, действующего незамедлительно и безотказно по типу безусловного рефлекса.

Развитие компенсаторного кроветворения при острых анемических состояниях осуществляется благодаря влиянию особого гуморального фактора – *эритропоэтина плазмы,* о котором говорилось выше.

**ЛЕКЦИЯ № 5**

**КАЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ.**

**ЛЕЙКОЦИТОЗ И ЛЕЙКОПЕНИЯ. КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВИДОВ ЛЕЙКОЦИТОВ**

**План.**

1. Морфологические изменения в эритроцитах.

1.1. Изменения величины эритроцитов

1.2. Изменение формы эритроцитов.

1.3. Изменение окраски эритроцитов.

2. Дегенеративные изменения лейкоцитов.

3. Лейкоцитоз. Сущность понятия. Возрастные изменения числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы. Причины лейкоцитоза.

4. Лейкозы. Сущность понятия. Некоторые признаки главных типов лейкозов.

5. Лейкоцитарная формула в норме и при патологии.

5.1. Нейтрофилия. Основные причины и клинические формы.

5.2. Эозинофилия. Основные причины и клинические формы.

5.3. Базофилия. Сущность и причины.

5.4. Моноцитоз. Причины и клинические формы.

5.5. Лимфоцитоз. Основные причины и клинические формы.

6. Лейкопения. Сущность понятия. Основные причины лейкопении.

6.1. Нейтропения. Основные причины и клинические формы.

6.2. Агранулоцитоз. Сущность понятия. Виды.

6.3. Лимфоцитопения. Определение, основные причины.

6.4. Эозинопения и моноцитопения. Определение и основные причины.

7. Клинические следствия изменения количества лейкоцитов.

1. **Морфологические изменения в эритроцитах**

Изменения в эритроцитах при различных заболеваниях касаются величины, формы, окраски и различных включений в них.

* 1. **1.1. Изменение величины**

Эритроциты с диаметром более 8,5-9 мкм называются *макроцитами* (макроцитами являются ретикулоциты, имеющие больший диаметр, чем зрелые эритроциты, но ретикулоциты окрашены обычно полихроматофильно), эритроциты с диаметром менее 6 мкм - *микроцитами*. Явление, характеризующееся явным различием в величине эритроцитов (в норме большинство эритроцитов имеет диаметр 7,2-7,5 мкм), называется анизоцитозом. Макроцитоз наблюдается закономерно при дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты, микроцитоз – при дефиците железа и талассемии (при этих состояниях микроцитоз обычно сочетается с гипохромией), анизоцитоз свойственен почти всем анемиям, но более тяжелые анемии сопровождаются и более выраженным анизоцитозом.

* 1. **1.2. Изменения формы**

Эритроциты могут терять нормальную округлую форму, становясь вытянутыми, звездчатыми, грушевидными и т.д. Изменение формы эритроцитов называется *пойкилоцитоз*.

***Лептоциты*** – плоские клетки (планоциты) с бледной центральной зоной и темноокрашенной периферией в виде кольца (соответственно расположению гемоглобина); обнаруживаются при железодефицитных анемиях и талассемии. ***Кодоциты*** – плоские клетки, отличаются от лептоцитов характерным темным пятном в центре (мишеневидные эритроциты); обычно встречаются при талассемии, смешанной S-талассемии, после спленэктомии. ***Дрепаноциты*** – серповидные эритроциты содержащие НвS; серповидность появляется при снижении давления кислорода (или рН) в окружающем растворе. ***Стоматоциты*** – эритроциты, имеющие удлиненную (в виде рта) центральную зону просветления; характерны для наследственной гемолитической анемии – стоматоцитоза, транзиторно могут выявляться при алкоголизме, циррозе. ***Акантоциты***– эритроциты в виде листьев растения аканта с зубчатым контуром, в формировании которых, как полагают, имеет значение нарушение липидного состава эритроцитарной мембраны встречаются при наследственном синдроме – абеталипопротеинемии. ***Эллиптоциты*** – двояковогнутые эритроциты в форме эллипса с биполярным расположением основной массы гемоглобина; характерны для наследственного эллиптоцитоза, описаны при циррозах печени, анемиях, связанных с дефицитом Г-6-ДФГ, глютатиона, талассемии, серповидно-клеточной анемии. *Сфероциты* – клетки сферической формы без центрального просвета, характерны для наследственного микросфероцитоза (но имеют уменьшенный диаметр); встречаются при изоиммунной и некоторых других гемолитических анемиях. ***Кератоциты и шизоциты*** – эритроциты, подвергавшиеся фрагментации; кератоциты – более крупные фрагменты, представляющие собой как бы разрезанные эритроциты с неровным краем на месте разреза (эритроциты в виде шлема - шлемовидные), шизоциты – более мелкие неправильной формы частицы эритроцитов (результат распада клетки на 2-3 фрагмента); их возникновение связано с механическим повреждением эритроцитов (микроангиопатическая анемия) при внутрисосудистой коагуляции, протезировании клапанов сердца, в некоторых случаях гипертензии. *Мегалоциты* – большие (в 1/2 раза – 2 раза больше нормальных) овальные эритроциты без центрального просветления; обнаруживается в окрашенных мазках крови при пернициозной анемии, развиваются из костномозговых предшественников в условиях нарушенного метаболизма нуклеиновых кислот (дефицит витамина В12 или фолатов).

* 1. **1.3. Изменение окраски**

Окраска эритроцитов зависит от концентрации в них гемоглобина, формы клетки и присутствия базофильной субстанции (базофильная субстанция, состоящая из РНК и протопорфирина, присуща молодым эритроидным элементам и исчезает при созревании эритроцитов). Эритроциты, нормально насыщенные гемоглобином (средняя концентрация в пределах 32-36%), в мазке крови имеют равномерную средней интенсивности розовую окраску (***нормохромные эритроциты***). При уменьшении концентрации гемоглобина эритроциты окрашиваются менее интенсивно (***гипохромные*** эритроциты), в лептоцитах (плоских эритроцитах) окрашена только наиболее толстая периферическая часть в виде кольца. Различная окраска отдельных эритроцитов в мазке крови называется ***анизохромия*** (при постгеморрагических, некоторых железодефицитных анемиях), иногда неравномерная окраска отмечается внутри одного эритроцита вследствие коагуляции (скучивания) гемоглобина (при действии гемолитических ядов – фенилгидразина, анилина, пикриновой кислоты). Эритроциты содержащие базофильную субстанцию, могут окрашиваться базофильно (при равномерном распределении базофильной субстанции) или чаще полихроматофильно (при пятнистом распределении, когда участки базофильной субстанции чередуются с участками гемоглобина). *Полихроматофилы* в фиксированных мазках, окрашенных азуром/II-эозином, соответствуют обычно ретикулоцитам, в которых базофильная субстанция после специальной суправитальной окраски присутствует в виде нитей и гранул. Поэтому полихроматофилия и ретикулоцитоз обычно выявляются параллельно и имеет одинаковое клиническое значение.

1. **Дегенератиные изменения лейкоцитов**

Важным в гематологической диагностики является изучение так называемой базофильной, дегенеративной или токсической зернистости нейтрофилов, а также дегенеративных изменений лейкоцитов.

Изучение дегенеративной зернистости ввела в практику Е.И. Фрейфельд, разработавшая в 1931 году специальные методы окраски зернистости.

Токсическая зернистость – очень тонкий реагент на воспалительные, главным образом гнойные, процессы – местные и общие. Она может служить опорным фактором в дифференциальной диагностики между рядом инфекционных заболеваний, при которых токсическая зернистость не наблюдается, и сепсисом; между туберкулезом легких, обычно не дающим сколько-нибудь выраженной токсической зернистости, и воспалительными и гнойными процессами в легких; между раком и местными воспалениями.

Особенно большое значение токсическая зернистость имеет в диагностике "острого живота" и вообще в гнойной хирургии.

Гнойные процессы (стептостафилококковые, пневмококковые, вызванные анаэробами, и пр.) дают наиболее интенсивную дегенеративную зернистость.

Параллельно с количественным нарастанием и увеличением калибра дегенеративной зернистости констатируется резкое разрежение цитоплазмы - цитологический признак, которому придают большое прогностическое значение. Это не вакуолизация, при которой наблюдаются крупные неравномерные дефекты в лейкоцитах («простреленные лейкоциты»), это равномерное разрежение в цитоплазме лейкоцита, зависящее, очевидно, от коагуляции белка.

Для практических целей и характеристики динамики процесса рекомендуют обозначать ***дегенеративную зернистость по системе плюсов***:

*четыре плюса* – крупная зернистость с разрежением цитоплазмы во всех лейкоцитах;

*три плюса* – крупная зернистость с разрежением цитоплазмы не во всех лейкоцитах (в 75 %)

*два плюса* – средняя зернистость более чем в половине лейкоцитов;

*один плюс* – пылевидная зернистость.

Дегенеративная зернистость нейтрофилов нередко появляется раньше ядерного сдвига. Ее нарастание при гнойно-септических заболеваниях, крупозной пневмонии и ряде воспалительных заболеваний указывает на прогрессирующую тяжесть заболевания, на возможный неблагоприятный исход. Токсическая зернистость в лейкоцитах появляется в большом количестве при распаде тканей воспалительного инфильтрата, тканей опухоли после лечения лучевой терапии. При крупозной пневмонии после кризиса, когда начинается период рассасывания воспалительного инфильтрата, токсическая зернистость бывает особенно грубой.

Эта зернистость резко выражена при скарлатине, септикопиемиях, перитонитах, флегмонах и прочих гнойных процессах. Однако при ряде тяжелых болезней (столбняк, энцефалит, тифы и др.) дегенеративная зернистость нейтрофилов отсутствует.

При объяснении образования токсическая зернистости следует исходить из простой концепции: патологическая зернистость образуется внутри клетки в результате физико-химического изменения белковой структуры жидкой части цитоплазмы – коагуляции белка под влиянием инфекционного токсического агента и агломерации коагулированного белка вокруг обычных нейтрофильных зерен. Белок лейкоцитов коагулируется (как бы «сваривается») в процессе воспаления тканей, составной частью которых эти лейкоциты являются. Согласно экспериментально-цитологическим исследованиям Э.И.Терентьевой, при действии повреждающих агентов на кровяную клетку уменьшается степень дисперсности ее коллоидов, что выражается в дифференцировке более плотных частей клеточного содержимого и появлении в темном поле (витальная окраска) светящихся структур в клетке; увеличивается вязкость цитоплазмы, прекращается в ней броуновское движение – в клетке развиваются явления паранекроза.

***Тельца Князькова-Деле.*** Помимо токсической дегенеративной зернистости, в лейкоцитах определяются так называемые тельце Князькова-Деле в виде довольно крупных бледно-голубых комочков различной формы. Doehle описал эти тельца при скарлатине (1912), считая их паразитарными включениями. В дальнейшем их паразитарная природа была опровергнута. Тельца имеют известное диагностическое значение, они встречаются на различных стадиях воспалительных и инфекционных заболеваний и даже при легких формах их, когда токсическая зернистость не вполне выражена или совсем отсутствует.

Из других цитоплазматических телец упоминаются тельца или ***зерна Амато***. Эти тельца – небольшие, округлые, овальные или типа запятой образования, красящиеся в бледно - голубой цвет; в них имеются красные и красно-фиолетовые зерна. Amato описал их при скарлатине, но встречаются они и при других инфекциях.

Другим важным признаком дегенеративных изменений в лейкоцитах является *вакуолизация цитоплазмы*. Вакуолизация обнаруживается реже, токсическая зернистость, но она имеет не меньшее диагностическое значение, указывает на тяжесть заболевания или интоксикации.

Вакуолизация наиболее характерна для тяжелейших форм сепсиса или абсцессов и острой дистрофии печени. При остром сепсисе, вызванном тяжелой анаэробной инфекцией, наряду с большим лейкоцитозом (свыше 50·109/л) наблюдают почти тотальную вакуолизацию всех лейкоцитов ("дырявые", "простреленные" лейкоциты). Поскольку жировая дегенерация представляет собой глубокую форму клеточной дистрофии, вакуолизация считается в прогностическом отношении более грозным симптомом, чем дегенеративная зернистость, свидетельствующая лишь о белковой дегенерации клетки.

***Токсические изменения в моноцитах:*** вакуолизация цитоплазмы, скучивание гранул или их отсутствие, уменьшение интенсивности окраски ядра – описанны Naegeli.

***Анизоцитоз лейкоцитов*** - один из характерных признаков тяжелого токсикоза при септических заболеваниях, туберкулезе, пернициозной анемии и вообще тяжелых анемиях (при последних чаще преобладают макролейкоциты).

Что касается дегенеративных изменений со стороны ядер, то они более известны: пикноз ядра, разрежение, набухание ядерного хроматина, причем в нейтрофилах чаще отмечается пикноз ядра, в моноцитах - разрежение ядерного хроматина. Иногда в одних клетках наблюдается пикноз, а в других – набухание. Изменение формы ядра лейкоцитов в виде кольца может наблюдаться при тяжелом алкоголизме.

Лейкоциты из очагов воспаления подвергаются большим дегенеративным изменениям. В ядрах нейтрофильных лейкоцитов из гнойных очагов обнаруживается столь значительный пикноз, что иногда ввиду большого сходства их с ядрами лимфоцитов эти клетки ошибочно принимают за лимфоциты.

Такие "псевдолимфоциты" в гное у больных с амебной дизентерией дали основания А.Г.Алексееву говорить о лимфоцитарном характере гноя при амебной дизентерии в отличие от нейтрофильного гноя при бактериальной дизентерии.

К числу дегенеративных признаков относятся и истощение зернистости в нейтрофильных лейкоцитах, происходящих из токсически пораженного костного мозга или из воспалительного гнойного очага.

Сморщивание всей клетки (микроформы лейкоцитов) - один из часто наблюдаемых дегенеративных признаков. Такие умирающие клетки обычно красятся интенсивнее.

Выше мы указали, что несоответствие в развитии ядра и цитоплазмы - яркий дегенеративный признак. Часто в подобных случаях приходится видеть следующее: ядро нейтрофила зрелое, цитоплазма же базофильная, молодая или, напротив, отмечается молодое ядро в созревшей протоплазме.

Наконец к числу известных дегенеративных признаков лейкоцитов относятся *лейколиз*. Этот феномен наблюдал впервые и экспериментально воспроизвел на лимфоцитах зараженных туберкулезом животных С.С.Боткин (1892г).

На данное явление нельзя смотреть как на результат только механического разможжения клетки. Отрицать здесь участие самой клетки, ее "готовность к разрушению" было бы неправильно. Размазывание мазка нормальной крови, каким бы грубым оно ни было, не приводит к образованию большого количества клеток лейколиза. Напротив, при патологии (лимфолейкоз, лейшманиоз, септические заболевания) эти клетки наблюдаются чаще обычного.

Морфологические и биохимические нарушения обнаруживаются в лейкоцитах периферической крови и костного мозга при ряде наследственных и приобретенных заболеваний, являясь нередко их отличительным признаком, и имеют значение при проведении дифференциального диагноза.

***Гиперсегментация нейтрофильных лейкоцитов*** – наличие более 5 сегментов (обычно 6-7) в ядрах нейтрофилов, может отмечаться у здоровых людей как наследственная (семейная) конституционная особенность, но также характерна для макрополицитов (необычно больших нейтрофилов с ядрами, содержащими от 5 до 10 сегментов) при дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты.

***Пельгеровская семейная аномалия лейкоцитов*** – доминантно наследуемое нарушение созревания, характеризующееся уменьшением сегментации ядер гранулоцитов при нормальной зрелой цитоплазме. Наиболее часто зрелые нейтрофилы содержат двухсегментное (в виде пенснэ) или несегментированное (в виде эллипса, боба, земляного ореха, гимнастической гири) ядро, трехсегментное – редко. Иногда форма ядра бывает округлая или вытянутая и напоминает ядра молодых нейтрофилов (палочкоядерных, мета- и миелоцитов), однако отличается от них грубым пикнотичным темноокрашенным хроматином, что учитывают при дифференциации аномалии Пельгера от реактивного сдвига влево нейтрофилов. Обычно отмечается гетерозиготное носительство аномалии с доброкачественным течением. Сходные изменения ("псевдопельгеровская" аномалия) обнаруживаются часто при хроническом миелолейкозе, других миелопролиферативных заболеваниях, малярии, агранулоцитозе, микседеме, множественной миеломе, туберкулезе. В основе аномалии созревания ядер предполагают нарушение метаболизма нуклеиновых кислот, однако природа его не известна.

Наиболее характерной чертой ***синдрома Чедиака-Хигаси*** – редкого заболевания детей и подростков с аутосомно-рецессивным типом наследования, является наличие больших цитоплазматических включений (аномальные гранулы) во всех типах клеток крови, за исключением мегакариоцитов, и склонность к гнойным инфекциям. Эти включения в нейтрофилах и моноцитах содержат миелопероксидазу, кислую фосфатазу, а в лимфоцитах – PAS-положительный материал и представляют собой, гигантские меланосомы. Повышенная чувствительность лиц с данным заболеванием к инфекциям связана, как считают, с дисфункцией гранулоцитов. Выявляется снижение способности нейтрофилов к убиванию некоторых бактерий возможно из-за нарушения сопровождающей фагоцитоз дегрануляции и освобождения в фагоцитарную вакуоль лизосомальных ферментов.

При ***хронической гранулематозной болезни*** детей предрасположенность к повторным гнойным инфекциям и формированию гранулем в органах обусловлена наследственным метаболическим дефектом гранулоцитов (а также моноцитов и гистиоцитов), состоящем в неспособности клеток во время фагоцитоза к респираторному взрыву (окислению глюкозы в гексозомонофосфатном шунте) и формированию перекиси водорода из-за недостаточности НАДФ·Н-оксидазы. Это ведет к нарушению внутриклеточного убивания бактерий (стафилококки, протей и др.), которые сами не способны генерировать перекись водорода, необходимую для действия миелопероксидазной бактерицидной системы фагоцитов (в тоже время микроорганизмы – стрептококки, пневмококки, сами продуцирующие перекись водорода, убиваются этой системой нормально). Для диагностики заболевания применяют *тест восстановления нитросинего тетразолия* (НСТ-тест), который оказывается отрицательным в отличии от бактериальных инфекций у лиц без данного дефекта гранулоцитов, когда он бывает повышенно активным.

3. **Лейкоцитоз. Сущность понятия. Возрастные изменения числа**

**лейкоцитов и лейкоцитарной формулы. Причины лейкоцитоза**

Общее количество лейкоцитов у здорового взрослого человека находится в пределах 4000-9000 в 1 мкл или в 4·109-9·109/л. Возрастные изменения числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы представлены в таблице 6.

**Таблица 6** Возрастные изменения числа лейкоцитов в лейкоцитарной формуле (Мазурин А.В., Воронцов И.М., 1985)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возраст | Лейкоциты (109/л) | Лейкоцитарная формула |
| Нейтрофилы | Лимфоциты | Моноциты | Эозинофилы | Базофилы |
| 2-4 нед.1-6 мес.7-12 мес.1-3 года4-5 лет6-8 лет8-10 лет10-12 лет13-14 лет14-15 лет Взрослые | 10-2512,011,011,010,010,08,67,98,37,64,0-9,0 | 26,027,031,036,545,544,551,552,556,560,548-79,0 | 58,057,054,051,544,545,038,536,532,028,019-37,0 | 12,011,011,010,09,09,08,09,08,59,03-11,0 | 3,02,51,51,51,01,02,02,02,52,00,5-5,0 | 0,50,50,50,50,50,50,250,50,50,50-1,0 |

У новорожденных количество лейкоцитов очень высокое 10·25.109/л. В течение первой недели жизни оно резко снижается и в возрасте от 2 недель до 2 лет общее количество лейкоцитов равняется 8,0·109–11·109/л, лимфоциты превалируют, составляя 50-60%; к 12 годам относительное содержание лимфоцитов в крови снижается до 25-36%; с 15 лет устанавливаются нормативы взрослого.

Помимо возраста на показатели лейкограммы влияют другие физиологические факторы. Число лейкоцитов подвергается спонтанным колебаниям в течении суток (нормальные биоритмы), повышаясь во вторую половину дня, независимо от приема пищи (прием пищи вызывает кратковременное увеличение числа лейкоцитов крови – так называемый *пищевой лейкоцитоз*). Значительное увеличение числа лейкоцитов в циркулирующей крови возникает *после физической нагрузки* (до 25 . 109/л) с нормализацией через несколько часов, во время *беременности* (17 . 109/л – 34 . 109/л), при *эмоциональных напряжениях* (стрессах) – страхе, боли (до 18 . 109/л), пароксизмальной тахикардии (13 . 109/л – 20 . 109/л), во время анестезии, после ультрафиолетового облучения и т.д. В большинстве перечисленных случаев происходит перемещение лейкоцитов из маргинального пула в циркулирующий.

Увеличение числа лейкоцитов периферической крови выше нормального уровня называют **лейкоцитозом**, уменьшение – **лейкопенией**.

Лейкоцитоз (лейкопения) редко характеризуется пропорциональным увеличением (уменьшением) числа лейкоцитов всех видов, например лейкоцитоз при сгущении крови; в большинстве случаев имеется увеличение числа (уменьшение) какого-либо одного типа клеток, поэтому применяют термины «нейтрофилез» (нейтрофильный лейкоцитоз, нейтрофилия), «нейтропения», «лимфоцитоз», «лимфопения», «эозинофилия», «эозинопения» (анэозинофилия), «моноцитоз», «моноцитопения», «базофилия». Увеличение или уменьшение числа отдельных видов лейкоцитов в крови может быть относительным или абсолютным в зависимости от общего содержания лейкоцитов – нормального, повышенного или пониженного. С другой стороны, уменьшение относительных показателей отдельных форм лейкоцитов при повышенном общем их количестве еще не свидетельствует об истинном уменьшении числа этих клеток, поскольку абсолютное их содержание в 1 мкл крови может оказаться нормальным или даже повышенным.

Анализ лейкограммы с учетом других показателей крови (и клинической картины) является ценным методом клинического обследования, помогая в постановке диагноза и определении прогноза заболевания. Изменение числа, соотношения отдельных форм и морфологии лейкоцитов зависит от вида и вирулентности возбудителя, характера, течения и распространенности патологического процесса, индивидуальной реакции организма. Так, лейкоцитоз более характерен для острых инфекций, чем для хронических, причем при малых формах его может не быть, или он выражен умеренно (11 . 109 – 15 . 109/л), в то время как тяжелые инфекции, вызванные вирулентными микроорганизмами, сопровождаются значительным лейкоцитозом, нередко с морфологическими изменениями гранулоцитов (базофилией и вакуолизацией цитоплазмы, токсической зернистостью в ней).

Лейкоцитоз характерен для:

* различных воспалительных заболеваний (нагноения, воспалительные процессы различной этиологии);
* инфекционных заболеваних (пневмония, оспа, менингит, рожа и др.) за исключением тех, при которых наблюдается лейкопения. Отсутствие лейкоцитоза в острой фазе инфекционного процесса является неблагоприятным признаком, особенно, если имеет место сочетание со сдвигом формулы влево;
* инфарктов различных органов (миокарда, легких, селезенки, почек);
* обширных ожогов;
* кровопотерь (постгеморрагический лейкоцитоз);
* злокачественных заболеваний;
* заболеваний системы крови (лейкозы, полицитемии, лимфогранулематоз);
* инфекционного мононуклеоза и инфекционного лимфоцитоза;
* уремии, диабетической комы;
* после спленэктомии (выраженный лейкоцитоз 15-20 . 109/л с нейтрофилезом до 90%);
* травм.

Сниженное или нормальное общее содержание лейкоцитов в крови с появлением молодых форм нейтрофилов – *сдвигом влево* (незрелые гранулоциты – миелоциты, метамиелоциты, палочкоядерные, принято располагать в стандартной лейкоцитарной формуле слева) при инфекциях указывает либо на раннюю стадию процесса, либо на сниженную реактивность организма. Изменение лейкограммы с увеличением количества сегментоядерных и полисегментоядерных форм с уменьшением количества палочкоядерных нейтрофилов называется *сдвигом вправо.*Встречаетсяпри мегалобластной анемии, болезнях почек и печени, после переливания крови.

Для бактериальных инфекций, особенно обусловленных кокковой флорой, свойствен нейтрофильный лейкоцитоз, для вирусной – чаще лейкопения или нормальное число лейкоцитов и относительный или абсолютный лимфоцитоз. Локализованные воспалительные процессы (абсцесс легких, забрюшинный) нередко характеризуются более высоким нейтрофильным лейкоцитозом, чем генерализованные (бактериемия), при этом степень нейтрофилеза пропорциональна объему некротизированной ткани, поскольку вероятно из некротизированных клеток освобождаются стимуляторы лейкоцитоза. Опухолевые заболевания (за исключением гемобластозов) также протекают с нормальным числом лейкоцитов, если нет интенсивной деструкции тканей, и сопровождаются нейтрофильным лейкоцитозом при наличии последней.

Способность развивать ту или иную лейкоцитарную реакцию на одинаковые стимулы зависит от индивидуальных свойств макроорганизма (состояния иммунной системы и других факторов). Дети отвечают на бактериальную инфекцию более высоким нейтрофильным лейкоцитозом, чем взрослые, в то же время пожилые люди и ослабленные больные нередко развивают слабую нейтрофильную реакцию даже на сильный возбудитель (вирулентную инфекцию) или оказываются «гематологически резистентны», в результате чего у них возникает лейкопения.

Так называемый доброкачественный (реактивный) лейкоцитоз нужно отличать от увеличения количества лейкоцитов при лейкозе, злокачественном заболевании крови.

1. **Лейкозы. Сущность понятия. Некоторые признаки**

**главных типов лейкозов**

***Лейкозы*** – группа злокачественных заболеваний костного мозга, которые характеризуются нерегулируемой пролиферацией одного вида (клона) незрелых клеток и подавлением продукции нормальных клеток крови. Почти все случаи лейкоза можно отнести к одной из 4 групп в зависимости от клинического течения болезни (острая или хроническая) и от того, какая клетка костного мозга, миелоидная (предшественница эритроцитов, гранулоцитов, моноцитов и тромбоцитов) или лимфоидная (предшественница лимфоцитов), дает начало опухолевым клеткам. Различают следующие 4 типа лейкозов: острый миелолейкоз, хронический миелолейкоз, острый лимфолейкоз и хронический лимфолейкоз. Основные признаки 4 типов лейкозов приведены в таблице 7. Так как во всех случаях развитие нормальных клеток крови подавлено, то ***признаками лейкоза*** могут быть: ***анемия*** (из-за дефицита нормальных эритроцитов), склонность к ***кровотечениям*** (из-за снижения количества тромбоцитов) и ***высокий риск инфекционных заболеваний*** (из-за снижения числа нормальных лейкоцитов).

**Таблица 7.** Некоторые признаки четырех главных типов лейкозов

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Острый миелолейкоз | Острый лимфолейкоз | Хронический миелолейкоз | Хронический лимфолейкоз |
| Наиболее частая форма острого лейкоза. Редко встречается у детей. Заболеваемость увеличивается с возрастомФранко-Американо-Британская (FAB) классификация, основанная на признаках аномальных клеток, позволяет идентифицировать 8 типов (МО-М7)Без лечения быстро приводит к смертиК моменту установления диагноза выраженные клинические проявления могут отсутствовать. Симптомы включают слабость, сонливость вследствие анемии. Лихорадка и инфекция из-за низкого количества зрелых функционирующих лейкоцитов. Гематомы и повышенная склонность к кровотечениям из-за снижения количества тромбоцитовЛечение начинают с химиотерапии (комбинация трех цитотоксических препаратов).Трансплантация костного мозга рассматривается для молодых пациентов при безуспешной химиотерапии. Хотя 80-90% молодых больных достигают ремиссии, только 30% излечиваются. Прогноз у пожилых хуже. | Большинство случаев (80%) встречается у детей, с пиком заболеваемости в возрасте 3-4 года.FAB-классификация позволяет идентифицировать 3 типа (L1-L3)\*Без лечения быстро приводит к смертиТипично наличие клинических проявлений заболевания на момент установления диагноза. Симптомы включают слабость и сонливость из-за анемии, лихорадку и инфекции из-за снижения числа нормально функционирующих лейкоцитов. Гематомы и повышенная склонность к кровотечениям из-за снижения количества тромбоцитов. Часто встречается инфильтрация ЦНС, проявляясь головной болью и рвотойЛечение начинают с химиотерапии (комбинация трех или четырех цитотоксических препаратов).Трансплантацию костного мозга рассматривают, если химиотерапия безуспешна. Химиотерапия излечивает большинство детей, но только 30% взрослых | Составляет примерно 15-20% случаев лейкоза. Встречается преимущественно в возрасте 40-60 лет, но могут болеть лица любого возрастаFAB-классификация не выделяет типовБолезнь прогрессирует медленно в течении нескольких лет. Позднее может наступить острая прогрессивная фазаНе всегда имеются выраженные клинические проявления к моменту установления диагноза. Симптомы включают слабость и одышку при напряжении из-за прогрессирующей анемии. Гематомы из-за снижения количества кровяных пластинок. Потеря массы тела. Ночные потыПрименяют монохимиотерапию (цитостатиком бисульфаном или интерфероном-α). К излечиванию приводит только пересадка костного мозга | Наиболее частая форма лейкоза. Составляет около 30% всех случаев. Встречается почти исключительно после 50 лет.FAB-классификация не выделяет типовБолезнь прогрессирует медленно в течении нескольких лет.Около 25% больных не предъявляют жалоб на момент установления диагноза при случайном исследовании крови. Такой период благополучия может длиться несколько лет. Симптомы сходны с проявлениями хронического миелолейкоза.До появления симптоматики лечения не требуется. Химиотерапия позволяет контролировать состояние больных, но не излечивает. Продолжительность жизни варьируется от 1 года до 20 лет, в среднем 3-4 года. |

\*В настоящее время FAB-классификация не имеет клинического значения. Используется иммунологическая и генетическая классификация для определения группы риска заболевания.

1. **Лейкоцитарная формула в норме и при патологии**

***Лейкоцитарная формула*** – процентное отношение различных видов лейкоцитов (при подсчете 100 клеток), процентное и абсолютное значение различных лейкоцитов и их морфологическое особенности представлены в таблице 8.

**Таблица 8.** Характеристика различных видов лейкоцитов здоровых людей

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Характеристика | Нейтрофилы | Эозинофилы | Базофилы | Лимфоциты | Моноциты |
| Палочкоядерные | Сегментоядерные |
| Количество в %Абс. число в 1 мклЯдро: – форма– окраскаЦитоплазмаЗернистость | 1-640-300палочковидноетемно-фиолетоваярозоватаяобильная, мелкая, бледно-фиолетовая | 47-722000-5500состоит из 3-5 сегм.темно-фиолетоваярозоватаяобильная, мелкая, бледно-фиолетовая | 0,5-520-300состоит из 2-3 сегм.фиолетоваябледно-розоваяобильная, крупная, розовая | 0-10-65неопределенной формыфиолетоваябледно-розоваянеобильная, неравномернаяфиолетовая | 19-371200-3000бобовидноетемно-фиолетоваяузкий голубой ободокединичныефиолетовыегранулы | 3—1190-600полиморфноесветло-фиолетоваяобильная бледно-голубаянепостоянно, иногда мелкая, бледно-фиолетовая |

Независимо от того, имеется ли у больного реактивный или злокачественный лейкоцитоз, в его крови преобладает один из пяти типов лейкоцитов. Дифференциальный подсчет позволяет его определить. Далее мы более детально рассмотрим причины увеличения количества лейкоцитов каждого типа.

**5.1. Нейтрофилия. Основные причины и клинические формы**

***Нейтрофилез (нейтрофилия)*** – увеличение содержания нейтрофилов выше 8·109/л крови. Нейтрофильный лейкоцитоз сопровождает обычно бактериальные инфекции, интоксикации, заболевания, протекающие с некрозом ткани (таблица 9).

**Таблица 9.** Нейтрофильный лейкоцитоз

|  |  |
| --- | --- |
| Основные причины | Клинические формы |
| Острые бактериальные инфекции:* локализованные

– генерализованныеВоспаление или некроз тканиИнтоксикации:– экзогенные– эндогенныеЛекарственные воздействияМиелопролиферативные заболеванияОстрые геморрагииКрайнее физическое напряжение, беременность и роды. | Абсцессы, остеомиелит, острый аппендицит, острый отит, пневмония (особенно крупозная), острый пиелонефрит, сальпингит, менингиты (гнойные и туберкулезный), ангина, острый холецистит, тромбофлебит и др.Септицемия, перитонит, эмпиема плевры, скарлатина, холера и т. д.Инфаркт миокарда, обширные ожоги, гангрена, быстро развивающаяся злокачественная опухоль с распадом, узелковый периартериит, острая атака ревматизма, приступ периодической болезни и др.Свинец, змеиный яд, вакцины (чужеродный белок, бактериальные)Уремия, диабетический ацидоз, подагра, эклампсия, синдром КушингаКортикостероиды (АКТГ, преднизолон и др.), дигиталис, камфора, эпинефринХронический миелолейкоз, эритремия, остеомиелофиброзСолидные опухоли, рак легких (как ответ на некроз тканей, сопровождающий опухолевый рост); |

При хроническом миелоидном лейкозе общее число лейкоцитов очень велико, обычно больше 50·109/л, а иногда выше 500·109/л. Это клетки преимущественно миелоидного ряда, с преобладанием нейтрофилов.

При различных заболеваниях могут наблюдаться ***лейкемоидные реакции*** – изменения крови реактивного характера, напоминающие лейкозы (лейкемии) по степени увеличения числа лейкоцитов или по морфологии клеток. Высокий нейтрофильный лейкоцитоз (до 50-100·109/л) с омоложением состава лейкоцитов (сдвиг влево разной степени вплоть до промиелоцитов и миелобластов) может возникать при острых бактериальных пневмониях (особенно крупозной) и других тяжелых инфекциях, остром гемолизе. Лейкемоидные реакции будут подробнее рассмотрены ниже.

**5.2. Эозинофилия.Основные причины и клинические формы**

***Эозинофилия*** – повышение уровня эозинофилов крови выше 0,4·109/л. Эозинофилия сопутствует аллергии, внедрению чужеродных белков и других продуктов белкового происхождения.

**Таблица 10.** Эозинофилия

|  |  |
| --- | --- |
| **Основные причины** | **Клинические формы** |
| АллергииИнвазии паразитамиХронические поражения кожиОпухолиДругие заболевания | Бронхиальная астма, сенная лихорадка, ангионевротический отек Квинке, аллергический дерматит, лекарственная непереносимость (йодистых препаратов, пенициллина и др.)Трихинеллез, эхинококкоз, шистозоматоз, филяриоз, стронгилоидоз, аскаридоз, анкилостомидоз, описторхозЭксфолиативный дерматит, псориаз, герпетиформный дерматитГемобластозы (хронический миелолейкоз, эозинофильный вариант, лимфогранулематоз, эритремия), саркоидоз, первичный паренхиматозный рак печени, опухоли яичника, матки (аденокарцинома, рак шейки, лейомиома) с метастазамиУзелковый периартрит с поражением легких, неспецифический язвенный колит, хорея, скарлатина, казеозный туберкулез лимфатических узлов. |

**5.3. Базофилия. Сущность и причины**

***Базофилия*** – увеличение содержания базофилов в периферической крови более 0,2·109/л наблюдается наиболее часто при хроническом миелолейкозе и эритремии, а также при хроническом язвенном колите, некоторых кожных поражениях (эритродермии, уртикарной сыпи). Базофилы и тучные клетки находят в коже и жидкости везикул при опоясывающем лишае (herpes zoster), контактном дерматите.

**Базофилия может выявляться также при:**

* аллергических реакциях на пищу, лекарства, введение чужеродного белка (вакцинация)
* лимфогрануломатозе
* гипофункции щитовидной железы
* лечении эстрогенами
* беременности и во время овуляции
* дефиците железа
* раке легких
* после спленэктомии

**5.4. Моноцитоз. Причины и клинические формы**

***Моноцитоз*** – увеличение числа моноцитов в крови более 0,8·109/л у взрослого. Моноцитоз является признаком хронического моноцитарного лейкоза, но может отмечаться и при других патологических состояниях, не являясь, однако, обязательной (диагностической) их особенностью. При легочном туберкулезе моноцитоз сопутствует острой фазе болезни, сменяясь нередко лимфоцитозом в неактивную фазу (отношение абсолютного числа моноцитов к лимфоцитам – высокое в активную фазу и низкое при выздоровлении, служит для оценки течения болезни).

**Таблица 11.** Моноцитоз

|  |  |
| --- | --- |
| **Основные причины** | **Клинические формы** |
| Подострые и хронические бактериальные инфекцииПаразитарные инфекцииГемобластозыДругие состояния | Подострый бактериальный эндокардит, легочный туберкулез, бруцеллез, сифилисМалярия, лейшманиоз, кала-азарХронический моноцитарный лейкоз, лимфогранулематоз (болезнь Ходжкина), лимфомаНеспецифический язвенный колит, системная красная волчанка, саркоидоз. ревматоидный артрит, инфекционный мононуклеоз; в период выздоровления от инфекций, после спленэктомии |

**5.5. Лимфоцитоз. Основные причины и клинические формы**

***Лимфоцитоз*** – увеличение содержания лимфоцитов выше 4,0·109/л в крови. Лимфоцитоз сопровождает вирусные, некоторые хронические бактериальные инфекции, является характерной чертой хронического лимфолейкоза.

**Таблица 12.** Лимфоцитоз

|  |  |
| --- | --- |
| **Основные причины** | **Клинические формы** |
| Инфекции:* острые вирусные
* острые бактериальные
* хронические бактериальные
* протозойные

Другие заболеванияНекоторые лекарственные аллергические реакции | Инфекционный мононуклеоз, острый инфекционный лимфоцитоз, ветряная оспа, корь, краснуха, острый вирусный гепатит, ранние стадии ВИЧ-инфекцииКоклюшТуберкулез, сифилис, бруцеллезТоксоплазмозГипертиреоидизм, саркома грудной клетки |

***Инфекционный мононуклеоз –*** острая инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр, является наиболее частой причиной изолированного лимфоцитоза. Большинство случаев наблюдается среди подростков и молодых людей. Симптомы включают боль в горле, лихорадку, тошноту, головную боль. Лимфатические узлы шеи увеличены. Количество лимфоцитов повышается через несколько дней после начала заболевания, достигает пика 10-30·109/л, затем постепенно снижается до нормальных значений через 1-2 мес.

***Причины злокачественного лимфоцитоза***

* Хронический лимфолейкоз. Общее количество лейкоцитов обычно повышено (часто до 50-100·109/л). Большинство из этих клеток представлено зрелыми лейкоцитами. Выраженный лимфоцитоз (больше 50·109/л) у пожилых лиц наиболее вероятно является проявлением хронического лимфолейкоза.
* Некоторые случаи неходжкинской лимфомы (злокачественная опухоль лимфоузлов).

**6. Лейкопения. Сущность понятия. Основные причины лейкопении**

***Лейкопения*** – уменьшение числа лейкоцитов крови ниже 4,0·109/л ***Понижение числа лейкоцитов*** (лейкопения) может быть вследствие следующих причин:

* при воздействии ряда химических веществ (бензол);
* после облучения (рентгеновские облучения, ионизирующая радиация);
* гипопластические и апластические процессы;
* прием лекарственных препаратов (НПВС, сульфаниламидные препараты, цитостатики и др.);
* заболевания селезенки (циррозы печени, протекающие со спленомегалией, лимфогрануломатоз); лейкопения в этих случаях обусловлена разрушением нейтрофилов в селезенке и тормозящим влиянием селезенки на кроветворение;
* анафилактический шок;
* коллагенозы;
* ряд инфекционных заболеваний протекает с лейкопенией – брюшной тиф, малярия, бруцеллез, корь, краснуха, грипп;
* при ряде эндокринных заболеваний (акромегалия, заболевания щитовидной железы);
* при лейкозах (передозировке цитостатиками);
* метастазирование новообразований в костный мозг.

Лейкопения встречается реже, чем лейкоцитоз. Сниженное количество лейкоцитозов почти всегда является результатом уменьшением числа нейтрофилов или лимфоцитов или тех и других вместе.

**6.1. Нейтропения. Основные причины и клинические формы**

***Нейтропения*** – снижение содержания нейтрофилов в крови ниже 1,5·109/л.

Причины, приводящие к нейтропении, перечислены в таблице 13. Нейтропения при одних инфекциях (брюшной тиф, паратифы, туляремия, некоторые вирусные инфекции) выявляется закономерно, при других (подострый бактериальный эндокардит, инфекционный мононуклеоз, милиарный туберкулез) – в части случаев.

Легкая нейтропения – признак некоторых вирусных инфекций (свинка, грипп, вирусный гепатит). Сочетание нейтропении и лимфоцитоза объясняет, почему при некоторых вирусных заболеваниях общее число лейкоцитов может оставаться нормальным, несмотря на уменьшение количества нейтрофилов.

**Таблица 13.** Нейтропении

|  |  |
| --- | --- |
| **Основные причины** | **Клинические формы** |
| Инфекции:* бактериальные
* вирусные

Миелотоксические влияния и супрессия гранулоцитопоэзаВоздействие антител (иммунные формы)– гаптеновые– аутоиммунные– изоиммунныеПерераспределение и секвестрация в органахНаследственные формы | Брюшной тиф, паратифы, туляремия, бруцеллез, подострый бактериальный эндокардит (sepsis Lenta), милиарный туберкулезИнфекционный гепатит, грипп, корь, краснуха,ВИЧ-инфекцияИонизирующая радиация;химические агенты: бензол, анилин, ДДТ, противоопухолевые препараты – цитостатики и иммунодепрессанты (эмбихин, лейкеран, циклофосфан, метотрексат, 6-меркаптопурин, миелосан, винбластин, рубомицин, имуран, азатиоприн и др.), левомицетин, хлорпромазин (аминазин);недостаточность витамина В12 и фолиевой кислоты;острый алейкемический лейкоз, апластическая анемия, ракГиперчувствительность к медикаментам – сульфаниламидам, бисептолу, антибиотикам (пенициллину, стрептомицину), анальгетикам (антипирину, амидопирину, фенацетину, бутадиону, нестероидным противовоспалительным – ацетилсалициловой кислоте, индометацину), противотуберкулезным (тубазиду), антитиреоидным (тиоурацилу, метилтиоурацилу), противосудорожным (дилантину), барбитуратам, левамизалу и др.При системной красной волчанке, ревматоидном артрите, хроническом лимфолейкозеУ новорожденных, постранфузионная реакцияАнафилактический шок, синдром Фелти и другие заболевания со спленомегалией (лимфома, туберкулез, портальная гипертензия и др.)Циклическая нейтропения, семейная доброкачественная хроническая нейтропения, хроническая нейтропения у детей |

В некоторых случаях тяжелой бактериальной инфекции костный мозг не способен воспроизводить нейтрофилы с необходимой скоростью. Некоторые факторы (разные виды ионизирующей радиации, бензол, цитостатические химиопрепараты), обладающие миелотоксическим действием, всегда вызывают лейкопению, если их доза достаточно велика. Нейтропения отмечается при недостаточности витамина В12 и фолиевой кислоты – необходимых компонентов биосинтеза тимидина в клетках костного мозга; при остром алейкемическом лейкозе вследствие угнетения нормального кроветворения и апластической анемии.

***Апластическая анемия*** – состояние недостаточности стволовых клеток костного мозга, что проявляется не только угрожающей жизни тяжелой нейтропенией, но и недостаточной продукцией всех типов клеток крови. Во многих случаях причину установить невозможно, однако апластическая анемия часто является следствием побочного действия некоторых лекарств, среди которых главную роль играют цитотоксические препараты, используемые для уничтожения раковых клеток, некоторые антибиотики (хлорамфеникол) и препараты золота (терапия ревматоидного артрита). Лучевая терапия (при лечении рака) тоже может вызвать апластическую анемию. Риск развития апластической анемии – одна из причин ограничения использования рентгеновских лучей в диагностических целях. При остром лейкозе опухолевые клетки пролиферируют в ущерб развитию нормальных клеток крови, что проявляется нейтропенией. Многие злокачественные опухоли метастазируют в кости, где они инфильтрируют костный мозг и подавляют продукцию нормальных клеток крови. Таким образом, нейтропения может быть признаком запущенного рака.

Нейтропения может сочетаться со спленомегалией, уменьшаясь после спленоэктомии, как полагают, в результате удаления органа, где происходит секвестрация и разрушение лейкоцитов, и образование антилейкоцитарных антител, а также из-за устранения "депрессивного влияния" селезенки на мозг. Нейтропению, наблюдающуюся при анафилактическом шоке, после введения гистамина и никотиновой кислоты связывают с передвижением лейкоцитов из циркуляции в маргинальных пул – секвестрацией в печени, селезенке, легких.

***Лекарственные нейтропении*** имеют разный генез. Препараты, употребляемые в химиотерапии опухолей с целью иммуносупрессии (цитостатики, действующие на отдельные фазы митотического цикла, на G0-фазу, или на все фазы клеточного цикла), вызывают повреждение костномозговых предшественников миелопоэза (а также лимфопоэза), ведущее к уменьшению продукции костного мозга, пропорциональному дозе препаратов. Ряд лекарств вызывает нейтропению лишь в редких случаях вследствие индивидуальной повышенной чувствительности к ним, мало зависящей от дозы. Эти медикаменты могут действовать как гаптены и, избирательно комбинируясь с белками лейкоцитов, вызвать образование цитотоксических антител, реагирующих с антигеном на поверхности лейкоцита. В результате происходит либо лизис клеток, либо их агглютинация с последующим удалением из циркуляции и разрушением в легких, селезенке и печени. Часть лекарственных препаратов (левомицетин, аминазин) может оказывать супрессивный (цитостатический) эффект на костный мозг у отдельных лиц, индивидуально чувствительных к ним, т. е. имеющих какой-либо дефект (возможно ферментный) кроветворного аппарата.

**6.2. Агранулоцитоз. Сущность понятия. Виды**

***Агранулоцитоз*** – резкое уменьшение числа гранулоцитов в периферической крови вплоть до полного их исчезновения, ведущее к снижению сопротивляемости организма к инфекции и развитию бактериальных осложнений (ангина, пневмонии, септицемия, язвенно-некротические поражения слизистой оболочки ротовой полости, ЖКТ). В зависимости от механизма возникновения различают миелотоксический и иммунный агранулоцитоз.

***Миелотоксический агранулоцитоз*** возникает в результате действия цитостатических факторов, зависит от их дозы и экспозиции, развивается обычно постепенно. Число лейкоцитов может падать очень резко (до сотен клеток в 1 мкл крови), наряду с нейтрофилами уменьшается содержание других видов лейкоцитов (моноцитов, лимфоцитов), ретикулоцитов. Миелотоксическому агранулоцитозу свойственно сочетание лейкопении с тромбоцитопенией и нередко анемией, т. е. панцитопения. На высоте агранулоцитоза в костном мозге отмечается исчезновение как гранулоцитарных, так и эритроцитарных элементов и мегакариоцитов, резкое уменьшение клеточности пунктата с сохранением лимфоидных, ретикулярных и плазматических клеток.

***Иммунный агранулоцитоз*** бывает главным образом двух видов:

гаптеновый и аутоиммунный (при системной красной волчанке и некоторых других формах иммунной патологии);

изоиммунный (у новорожденных, иногда после гемотрансфузии).

***Гаптеновый агранулоцитоз*** развивается обычно остро (время сенсибилизации к лекарственному препарату бывает разным), падение числа нейтрофилов в периферической крови может произойти в течение нескольких часов и завершится полным их исчезновением из циркуляции.

Лекарственные препараты, вызывающие агруналоцитоз: сульфасалазин, антитиреоидные препараты, макролиды, прокаинамид, карбамазепин, гликозиды наперстянки, индометацин, троксерутин, производные сульфонилмочевины, кортикостероиды, дипиридамол, β-лактамы, пропранолол, салицилаты и др.

Лейкопения носит чаще более умеренный характер (2,0·109-1,0·109/л крови), причем гранулоцитопения может быть изолированной при сохранении лимфоцитов, ретикулоцитов и тромбоцитов. В костном мозге отмечается уменьшение клеточных элементов преимущественно за счет гранулоцитарного ростка.

Продолжительность агранулоцитоза разная: гаптеновый, в большинстве случаев, заканчивается через 1-2 недели при условии своевременной отмены препарата и соответствующей терапии, но может затягиваться, если гаптен персистирует в организме; длительность панцитопении при миелотоксическом агрунулоцитозе – 1,5-2 недели. Выход из агранулоцитоза характеризуется появлением в крови плазматических клеток, метамиелоцитов и миелоцитов, моноцитов (увеличение числа моноцитов выше 100 в 1 мкл крови является хорошим прогностическим признаком), при миелотоксическом типе – также тромбоцитов и ретикулоцитов.

***Аутоиммунный агранулоцитоз*** связывают с аутоантителами, обнаруживающимися в крови больных системной красной волчанкой и являющихся результатом снижения активности (или недостаточности) Т-супрессоров, которым приписывают определенную роль в патогенезе этих заболеваний. Аутоиммунный агранулоцитоз носит циклический характер, углубляясь при обострении основного заболевания или провоцируясь инфекцией, часто сочетается с тромбоцитопенией или анемией.

***Изоиммунная нейтропения*** с отсутствием в костном мозге зрелых гранулоцитов отмечается иногда у новорожденных и объясняется выработкой в организме матери антител (изоагглютининов) против лейкоцитов плода, проникновением этих антител через плаценту в кровь ребенка и разрушением гранулоцитов. Нейтропению, возникающую редко при гемотрансфузиях, связывают также с появлением в крови реципиента агглютининов против донорских лейкоцитов, способных разрушать и собственные нейтрофилы реципиента.

***Наследственные нейтропении*** – гетерогенная группа заболеваний и синдромов, передающихся преимущественно аутосомно-доминантным путем. *Циклическая нейтропения* характеризуется периодически наступающим уменьшением числа нейтрофилов в крови и возможностью развития в нейтропеническую фазу инфекционных осложнений. *Семейной доброкачественной хронической нейтропении* свойственно асимптоматическое течение, постоянно умеренное уменьшение числа нейтрофилов в крови у нескольких членов одной семьи. *Хроническая нейтропения у детей* возникает в раннем детстве, проявляется лейкопенией (около 2,0 109/л абсолютной нейтропенией, происхождение ее объясняют повышенным разрушением или секверстрацией, а не задержкой созревания лейкоцитов), доброкачественным течением (в отличие от так называемого *генетического агранулоцитоза детей*, характеризующегося тяжелыми гнойными инфекциями на фоне практически полного анейтрофилеза вследствие нарушенного созревания нейтрофилов и высокой смертностью в первые годы жизни).

Уменьшение содержания в крови других видов лейкоцитов встречается реже и потому имеет меньшее клиническое значение.

**6.3. Лимфоцитопения. Определение, основные причины**

***Лимфоцитопения*** (менее 1,4·109/л лимфоцитов в крови детей и менее 1,0·109/л у взрослых) у подростков и детей бывает связана с гипоплазией тимуса и сочетается с врожденной агаммаглобулинемией, у взрослых наблюдается при лимфогранулематозе, распространенном туберкулезе лимфатических узлов, как ранний признак при остром радиационном синдроме.

**Причины лимфоцитопении**

* СПИД. Вирус иммунодефицита человека, который вызывает СПИД, проявляет свое опустошительное действие, избирательно поражая Т-лимфоциты. Вирус размножается внутри T-лимфоцитов, вызывая гибель клеток, так что СПИД характеризуется прогрессивной деструкцией Т-лимфоцитов с тяжелой прогрессирующей лимфоцитопенией.
* Аутоимунная деструкция лимфоцитов является причиной лимфоцитопении, встречающейся при системной красной волчанке.
* Легкая лимфоцитопения часто сопровождает некоторые острые воспалительные состояния, например, панкреатит, аппендицит и болезнь Крона.
* Инфекция вирусом гриппа, тяжелые вирусные заболевания.
* Ожоги, операции, травмы.
* Глубокий дефицит лимфоцитов - признак некоторых врожденных заболеваний, обнаруживаемых у новорожденных. Они включают синдром Ди Джорджа, при котором из-за недоразвития тимуса дети рождаются без Т-лимфоцитов. Недостаток В- и Т-лимфоцитов – признак тяжелого синдрома комбинированного иммунодефицита.
* Злокачественные новообразования.
* Почечная недостаточность.
* Недостаточность кровообращения.
* Прием кортикостероидов.

**6.4. Эозинопения и моноцитопения. Определение и основные причины**

***Эозинопения*** (количество эозинофилов менее 0,05·109/л крови) отмечается при введении АКТГ, синдроме Кушинга, стрессовых ситуациях из-за повышения адренокортикоидной активности, ведущей к задержке эозинофилов в костном мозге. Эозинопения характерна для начальной фазы инфекционно-токсического процесса.

***Моноцитопения*** – уменьшение числа моноцитов меньше 0,09·109/л в крови взрослого. Количество моноцитов снижается при гипоплазии кроветворения, тяжелых септических заболеваниях, при приеме глюкокортикостероидов.

1. **Клинические следствия изменения количества лейкоцитов**

Увеличение числа лейкоцитов – защитная реакция против повреждения, инфекции, воспаления. Лейкоцитоз, таким образом, является физиологическим и обычно не имеет последствий. В некоторых случаях лейкоза число лейкоцитов достигает таких высоких значений, что может вызвать уменьшение текучести крови, делая ее более вязкой. Это увеличение вязкости повышает АД, провоцируя головные боли, спутанность в сознании, расстройства зрения и спустя некоторое время – сердечную недостаточность.

Лейкопения повышает риск инфекционных заболеваний. Это проявляется клинически, когда число нейтрофилов падает ниже 1,0·109/л, особенно при бактериальной инфекции ротовой полости и глотки. Без адекватного числа нейтрофилов эти инфекции не разрешаются, вызывая изъязвления. Больные, у которых число нейтрофилов меньше 1,5·109/л, рискуют погибнуть от неконтролируемой бактериальной инфекции. Даже безвредные обычно бактерии, которые находятся на коже, представляют серьезную угрозу для жизни таких пациентов. Эти больные требуют особого ухода, чтобы снизить риск инфекции.

Тяжелая лимфоцитопения ухудшает иммунный ответ, подвергая больных высокому риску инфекции бактериями, вирусами и грибами. Угрожающие жизни инфекции, которыми страдают больные СПИДом, являются результатом снижения количества Т-лимфоцитов.

**ЛЕКЦИЯ № 6**

**ЛЕЙКЕМОИДНЫЕ РЕАКЦИИ.**

**КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАКТОВКА ОТДЕЛЬНЫХ**

**ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОГРАММЫ.**

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ**

**СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ**

**План**

1. Лейкемоидные реакции. Сущность понятия. Фазы течения. Классификация.

1.1. Лейкемоидные реакции лимфатического и моноцитарно-лимфатического типа

1.2. Лейкемоидные реакции миелоидного типа

1.3. Лейкемоидные реакции эозинофильного типа

2. Гематокрит. Определения понятия. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением гематокрита.

3. Средний объем эритроцитов. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя.

4. Среднее содержание гемоглобина в эритроците. Сущность понятия.

5. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя.

6. Показатель распределения эритроцитов по объему. Определение.

7. Цветной показатель. Определение. Гипохромия. Гиперхромия.

8. LE – клеточный феномен. Сущность понятия. Причины возникновения.

9. СОЭ. Определение. Патофизиологические механизмы.

9.1. Лабораторное определение СОЭ.

9.2. Причины повышения СОЭ.

9.2.1. Воспалительные заболевания.

9.2.2. Инфекционные заболевания.

9.2.3. Онкологические заболевания.

9.2.4. Другие причины повышения СОЭ.

9.3. Причины снижения СОЭ.

1. **Лейкемоидные реакции. Сущность понятия.**

**Фазы течения. Классификация**

***Лейкемоидные реакции*** представляют собой реактивные, в известной мере функциональные состояния кроветворного аппарата. Их развитие часто определяется индивидуальной реактивностью организма, однако в возникновение ряда лейкемоидных реакций (например, типа инфекционного лимфоцитоза или мононуклеоза) этиологическую роль играет специфический фактор. При инфекционном лимфоцитозе или мононуклеозе доказано действие вируса на лимфатическую и ретикуло-гистиоцитарную системы, а при эозинофильной реакции – действие токсинов некоторых тканевых глистов (фасцилы, трихинеллы, описторха и др.) или невыясненных инфекционных агентов на костный мозг.

В гистопатогенезе лейкемоидных реакций и лейкозов имеются черты сходства (гиперплазия и даже специфическая системная метаплазия), но в глубокой этиопатогенетической общности у этих двух процессов нет. Лейкоз – это неоплазия крови, лейкемоидная реакция, это, фигурально выражаясь, "воспаление" крови.

В зависимости от изменения взаимоотношений между раздражителями и организмом, смены периода раздражения кроветворной системы периодом торможения можно условно различать несколько фаз в течении лейкемоидных реакций:

1 - выраженная лейкемоидная реакция;

2 - фаза спада лейкемоидной реакции;

3 - фаза нормализации со следовыми реакциями.

***Классификация лейкемоидных реакций***

В основу классификации лейкемоидных реакций целесообразнее всего положить гематологический признак (поскольку всякая лейкемоидная реакция изучается гематологами как лабораторно - гематологический симптом). Вместе с тем в каждом конкретном случае устанавливается этиология лейкемоидной реакции, что дает возможность применить рациональную терапию основного заболевания, приведшего к лейкемоидной реакции.

***Выделяют две основные группы лейкемоидных реакций:***

Первая группа – лейкемоидные реакции миелоидного типа.

Вторая группа – лейкемоидные реакции лимфатического и моноцитарно-лимфатического типа.

*Первая содержит следующие подгруппы:*

1. Лейкемоидные реакции с картиной крови, соответствующей хроническому миелолейкозу. Их развитию способствуют следующие этиологические факторы:

а) инфекции – сепсис, скарлатина, рожа, гнойные процессы, дифтерия, крупозная пневмония, туберкулез, дизентерия, острая дистрофия печени при болезни Боткина и др.;

б) ионизирующая радиация (рентгеновские лучи, радиоизотопы и т.п.);

в) раневой, операционный шок, травма черепа;

г) интоксикации – экзогенная (сульфаниламидами, угарным газом и др.); эндогенная (азотемическая уремия);

д) лимфогранулематоз;

е) метастазы в костный мозг злокачественных опухолей.

2. Лейкемоидные реакции эозинофильного типа. Этиологические факторы этих реакций:

а) глистная инвазия – описторхоз, стронгилоидоз, трихинеллез и др.;

б) эозинофильная пневмония (эозинофильные инфильтраты в легких), аллергические лейкемоидные реакции (лекарственные – чаще всего на введение антибиотиков, лекарственные дерматозы и т.д.), тяжелые универсальные дерматиты неизвестного генеза, лейкемоидные реакции при коллагенозах.

3. Лейкемоидные реакции миелобластного типа. Этиологические факторы:

а) сепсис;

б) туберкулез;

в) метастазы злокачественных опухолей в костный мозг.

**1.1. Лейкемоидные реакции лимфатического и**

**моноцитарно-лимфатического типа**

1. Монолимфатическая реакция крови. Этиологическая основа: болезнь Филатова – инфекционный мононуклеоз – острое вирусное инфекционное заболевание, в основе которого лежит гиперплазия ретикулярной ткани, проявляющееся изменениями крови, реактивным лимфаденитом и увеличением селезенки.

В периферической крови – нарастающий лейкоцитоз от 10-109/л до 30-109/л за счет увеличения количества лимфоцитов и моноцитов. Количество лимфоцитов достигает 50-70 %, моноцитов — от 10-12 до 30-40 %. Помимо этих клеток, могут выявляться плазматические клетки, атипичные мононуклеары. патогномоничные для данного заболевания. В период ре-конвалесценции появляется эозинофилия. Количество эритроцитов и гемоглобина обычно в пределах нормы и снижается только при инфекционном мононуклеозе, осложненном аутоиммунной гемолитической анемией.

В пунктате костного мозга на фоне нормальной клеточности небольшое увеличение содержания моноцитов, лимфоцитов, плазматических клеток, 10 % из них составляют атипичные мононуклеары.

2. Симптоматический инфекционный лимфоцитоз – острое доброкачественное эпидемическое заболевание, протекающее с лимфоцитозом преимущественно у детей в первые 10 лет жизни. Возбудитель заболевания — энтеровирус из группы Коксаки 12-го типа.

В периферической крови выраженный лейкоцитоз от (30-70) 109/л до 100-109/л за счет увеличения количества лимфоцитов до 70-80 %. В 30 % случаев обнаруживают эозинофилы (6-10 %), полисегментацию ядер нейтрофильных гранулоцитов. В миелограмме отсутствует лимфоидная метаплазия.

Симптоматический лимфоцитоз может быть симптомом таких инфекционных заболеваний, как брюшной тиф, паратифы, бруцеллез, висцеральный лейшманиоз и др.

3. Болезнь кошачьей царапины — острое инфекционное заболевание, возникающее после укуса или царапины кошки. В начале заболевания в периферической крови отмечается лейкопения, которая в период выраженных клинических проявлений сменяется умеренным лейкоцитозом — до (12-16)-109/л со сдвигом влево. У отдельных больных возможны лимфоцитоз до 45-60 %, лимфоидные элементы, напоминающие атипичные мононуклеары при инфекционном мононуклеозе. Миелограмму обычно не исследуют.

4. Лимфатические реакции при различных инфекциях у детей (с гиперлейкоцитозом). Этиологические факторы: краснуха, коклюш, ветряная оспа, скарлатина.

**1.2. Лейкемоидные реакции миелоидного типа**

В морфологическом отношении лейкемоидные реакции миелоидного типа характеризуются картиной крови, напоминающей до некоторой степени таковую при хроническом миелолейкозе. Обычно отмечается умеренный лейкоцитоз с сублейкемическим сдвигом в лейкограмме до миелоцитов, иногда даже до промиелоцитов.

Можно говорить о лейкемоидной картине, если лейкоцитоз и невелик, но имеется "лейкемический” сдвиг в формуле; можно говорить также о лейкемоидной реакции, если лейкоцитоз очень невелик – порядка 30·109/л - 50 ·109/л, но в лейкограмме имеется только сдвиг до палочкоядерных нейтрофилов и метамиелоцитов.

В отличии от типичного миелолейкоза миелоидные лейкемоидные картины характеризуются менее выраженным "левым" сдвигом в лейкограмме, но зато частым наличие токсческой зернистости и дегенеративными изменениями в нейтрофилах, поскольку лейкемоидные реакции развиваются при инфекционных или септических заболеваниях. При миелолейкозе, как правило, наблюдается высокий тромбоцитоз, а при лейкемоидной реакции число тромбоцитов нормальное. Далее при хроническом миелолейкозе отмечается резкое повышение (в 3-4 раза) гистамина в сыворотке крови.

Для уточнения диагноза лейкемоидной реакции можно провести исследование пунктатов костного мозга и лимфатического узла.

В случаи лейкоза пунктат костного мозга покажет значительное преобладание белого ростка над красным (20:1) с миелоцитарно – промиелоцитарным сдвигом и повышенным содержанием мегакариоцитов, а в пунктате лимфатического узла определится миелоидная метаплазия.

Лейкемоидные реакции встречаются, в общем при определенных инфекционных заболеваниях и интоксикациях. Этот факт имеет большое практическое значение, так как облегчает возможность точной идентификации лейкемоидных состояний крови. Важнейшими инфекционными заболеваниями, при которых могут наблюдаться лейкемоидные реакции миелоидного типа, являются сепсис, гнойные процессы, туберкулез, крупозная пневмония, дифтерия, скарлатина, дизентерия.

Некоторые другие заболевания, сопровождающиеся лейкоцитозом, могут также давать лейкемоидные реакции.

Лейкоцитоз обычно колеблется от 15·109/л до 50·109/л, причем максимальные цифры его наблюдаются на высоте заболевания; по мере излечения лейкоцитоз исчезает. Важным отличием лейкемоидной реакции от лейкоза принято считать наличие при первой токсической зернистости нейтрофилов. В отличии от лейкоза при лейкемоидной реакции никогда не бывает относительного и абсолютного увеличения числа базофилов.

***Лейкемоидные реакции на ионизирующую реакцию***. Лейкемоидная реакция миелоидного типа может быть гематологическим признаком как острой, так, и хронической лучевой болезни.

Лейкемоидные реакции эозинофильно-нейтрофильного типа зарегистрированы у людей, подвергшихся острому воздействию ионизирующей радиации в большой дозе. Такие же реакции очень редко имеют место и при длительном воздействии лучевого фактора на человека.

***Лейкемоидные реакции при шоке.***

В эту группу входят лейкемоидные реакции, возникающие под влиянием раневого шока, операционного шока, травматические лейкемоидные реакции и т.п.

***Лейкемоидные реакции на почве интоксикации*** (стрептоцид и др.) При длительном приеме сульфаниламидов может развиться высокий лейкоцитоз (20 - 30 ·109/л) со сдвигом гранулоцитов, аналогичным таковому при миелолейкозе. Возможно развитие своеобразного гематологического синдрома – лейкемоидной реакции в сочетании с острой гемолитической анемией, возникшей после приема сульфаниламидов.

Наконец, следует упомянуть, что лейкемоидные реакции миелоидного типа могут наступать в результате тяжелых отравлений различными вредными для организма веществами. Большой лейкоцитоз с лейкемоидным сдвигом наблюдается при азотемической уремии.

***Лейкемоидные реакции при агранулоцитозе.*** Необходимо указать на возможность резких парадоксальных лейкемоидных реакций при агранулоцитозе. Механизм их сводится к следующему: в период острого агранулоцитоза проходит резкое угнетение кроветворение в костном мозгу с "арестом" клеток на уровне промиелоцитов и миелоцитов. При этом накапливается огромное количество пролиферирующих элементов, что бы осуществить функцию нормальной физиологической дифференциации и выхода на периферию. После того как снимается патологический барьер, огромные массы этих клеток часто в неокончательно дифференцированном виде поступают на периферию, создавая картину выраженной лейкемоидной реакции.

Лейкемоидные реакции при лечении кортикостероидными гормонами. В настоящее время эти реакции широко известны клиницистам и доказаны экспериментально. Они характеризуются нейтрофильным лейкоцитозом до 20·109/л со сдвигом главным образом до палочкоядерных и метамиелоцитов при очень небольшом проценте миелоцитов. С отменой гормонов эти реакции быстро сходят на нет.

При злокачественных новообразованиях лейкемоидные реакции иногда развиваются в результате общего действия опухолевого процесса или продуктов распада опухолей. Однако чаще лейкемоидные реакции при них наступают в результате раздражения метастазами ростков миелоидного и эритробластического кроветворения в костном мозгу. При этом в периферической крови отмечается сдвиг до миелоцитов и промиелоцитов. Часто наряду с патологическими элементами красной крови (ассоциированная гранулоцитарная и эритробластическая реакции).

Механизм возникновения подобных лейкемоидных реакций, очевидно, связан с раздражением, но наблюдали немало больных с распространенными метастазами во все кости без лейкемоидной реакции (кроме анемии и единичных нормобластов, в периферической крови ничего отметить не удалось).

Иногда очаги метастазов, вызывающие развитие лейкемоидной реакции, бывают так малы, что на ренгеннограме не фиксируются, и правильный диагноз устанавливают путем цитологического исследования пунктата костного мозга.

При раковых метастазах в кости иногда наблюдается остеосклеротический процесс. Остеосклероз при метастазах рака большей частью характеризуется развитием гипопластической картины крови, однако в некоторых случаях, когда костно-мозговые очаги кроветворения сохранены и притом находятся в состоянии раздражения от метастазов, анемия сочетается с гранулоцитарно-эритробластической реакцией. В крови встречаются мегакариоциты, развивающиеся в очагах экстрамедуллярного кроветворения.

* 1. **Лейкемоидные реакции эозинофильного типа**

Лейкемоидные реакции эозинофильного типа привлекают большое внимание врачей. Они являются принадлежностью в основном следующих групп заболеваний.

Гельминтозы с тканевой локализацией паразитов или их личинок (трихинеллез, фасциолез, описторхоз, стронгилоидоз и миграция личинок аскарид, в особенности перманентная миграция личинок аскарид, не адаптированных к организму человека, – Toxocara canis иToxocara catis ).

Далее высокие эозинофилии крови чаще часто обнаруживаются у больных с аллергическими реакциями неопределенной этиологии, в особенности у лиц с врожденной сверхчувствительностью – при эозинофильных инфильтратах органов различной локализации, дерматозах, бронхиальной астме при поедании большого количества клубники, земляники при коллагенозах.

Часто причиной лейкемоидных реакций эозинофильного типа является применение различных лекарств, особенно антибиотиков и сульфаниламидов. Кроме того, очень высокие реактивные эозинофилии наблюдаются у больных с тяжело протекающими формами лимфогранулематоза.

Значительно реже большие эозинофилии крови определяются при злокачественных новообразованиях, гнойной инфекции, эндокринопатиях и как проявление семейно – аллергического диатеза у практически здоровых людей.

Особого внимания заслуживает своеобразная форма лихорадочного, доброкачественного заболевания с основным симптомом – гиперэозинофилией крови. При аналогии с инфекционным мононуклеозом эту форму обозначают как "инфекционный эозинофилез".

Наконец довольно часто встречается лейкемоидная гиперэозинофилия с доброкачественной бессимптомной клиникой, причина которой пока не установлена.

В гематологическом плане лейкемоидные реакции эозинофильного типа характеризуются скоплением в крови огромного количества эозинофилов, в десятки и сотни раз превышающем нормальное содержание этих клеток в ней.60-80-90% эозинофилов при лейкоцитозе более 40-50·109/л не являются большой редкостью. Однако в противоположность нейтрофильным лейкемоидным реакциям сдвиг в ядерной формуле эозинофилов при высоких эозинофилиях крови наблюдается очень редко. Более того, часто отмечается наклонность к сдвигу вправо – гиперсегментация ядер эозинофилов; характерна также вакуолизация цитоплазмы клеток.

Прогностически лейкемоидные реакции эозинофильного типа должны оцениваться при различных заболевания по-разному.

При паразитических заболеваниях гиперэозинофилия не определяет никаких особенностей течения инвазии, отличающих ее от течения данной инвазии вообще. В группе аллергических заболеваний, в особенности при эозинофильных пневмониях, надо помнить о реальной возможности развития отека легкого. Эозинофильные аллергозы с кожной локализацией в ряде случаев протекает очень тяжело и упорно, инвалидизируя больных. При коллагенозах, осложненных поражением сердца, высокая эозинофилия является неблагоприятным признаком и свидетельствует нередко о развитии пристеночного тромбоза эндокарда.

Лекарственная эозинофилия является по существу выражением лекарственной болезни. У одних больных она является единственным отражением сенсибилизации, у других гиперэозинофилия предшествует и сопутствует развитию соматических проявлений лекарственной болезни, в том числе и эозинофильных пневмоний и тяжелых поражений кожи.

Высокая эозинофилия является неблагоприятным симптомом при лимфагранулематозе.

Патогенетически лейкемоидные реакции эозинофильного типа принято связывать с аллергией, в частности с эозинофилотаксисом различных веществ, связанных в процессе течения аллергических реакций (гистамина, гепарина и т. д.). Однако гиперэозинофилия может развиваться и в связи с аллергией при воздействии веществ, обладающих прямым эозинофилотаксисом.

***Течение, прогноз и лечение.*** Течение лейкемоидных состояний миелоидного типа связано с течением основного заболевания. При выздоровлении от основного заболевания исчезает и лейкемоидная реакция.

Болезнь с лейкемоидной реакцией может окончиться летально, но смерть наступает от основного заболевания, а не от лейкемоидной реакции. Поэтому неправильно ставить вопрос так, что "лейкоз – необратимая миелоидная гиперплазия и метаплазия", а "лейкемоидная реакция обратима". Лейкемоидная реакция может быть необратимой, но "необратимость" здесь другая – она зависит от необратимости основного заболевания.

***Лимфоцитарные и лимфатические лейкемоидные реакции***

В эту группу входят лейкемоидные реакции с преобладанием лимфоидных, плазматических, моноцитарных, или смешанных картин крови. Клиника этих форм, крайне неоднородных по симптоматике, гематологической динамики и течению, сочетается с определенной патологией крови.

1. **Гематокрит. Определения понятия. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением гематокрита**

Гематокрит (Ht) – объемная фракция эритроцитов в цельной крови (соотношение объемов эритроцитов и плазмы), которая зависит от количества и объема эритроцитов. В современных гематологических счетчиках Ht является расчетным (вторичным) параметром, выводимым из количества эритроцитов и их объема. Ht в норме представлен в табл. 14.

**Таблица 14.** Ht в норме [Тиц Н., 1997]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возраст | Женщины, % | Мужчины, % |
| Кровь из пуповины1—3 дня1 нед2»1 мес2»3-6»0,5—2 года3—6 лет7-12»13-16»17-19»20-29 »30-39»40-49»50-65»>65» | 42-6045-6742-6639-6331-5528-4229-4132,5-41,031,0-40,532,5-41,533,0-43,532,0-43,533,0-44,533,0-44,033,0-45,034,0-46,031,5-45,0 | 42-6045-6742-6639-6331-5528-4229-4127,5-41.031,0-39,532,5-41,534,5-47,535,5-48,538,0-49,038,0-49,038,0—49,037,5-49,530,0—49,5 |

***Средние нормы*** :М. – 40-48%

Ж – 36-42%.

Величина Ht широко используется для оценки степени выраженности анемии, при которой он может снижаться до 25—15 %, а также служит ориентиром для суждения о гемоконцентрационных сдвигах и гемодилюции. Повышение Ht до 55—65 % характерно для эритремии, при симптоматических эритроцитозах он повышается менее значительно — до 50— 55 %. Изменения величины Ht при различных заболевания представлены в табл. 15.

**Таблица 15.** Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением гематокрита

|  |  |
| --- | --- |
| Гематокрит повышен | Гематокрит снижен |
| Эритроцитозы:— первичные (эритремия);— вызванные гипоксией различного происхождения;— новообразования почек, сопровождающиеся усиленным образованием эритропоэтина;— поликистоз и гидронефроз почекУменьшение объема циркулирующей плазмы (ожоговая болезнь, перитонит и др.)Дегидратация | АнемииУвеличение объема циркулирующей крови:– беременность (особенно вторая половина);– гиперпротеинемииГипергидратация |

1. **Средний объем эритроцитов. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя**

MCV (mean corpuscular volume) — средний корпускулярный объем — средняя величина объема эритроцитов, измеряемая в фемтолитрах (fl) или кубических микрометрах. В гематологических анализаторах MCV вычисляется делением суммы клеточных объемов на число эритроцитов. Однако этот параметр можно рассчитать по формуле:

Ht (%)·10

R (· 1012/л),

где R количество эритроцитов в крови

Значения MCV, находящиеся в пределах 80—100 fl, характеризуют эритроцит как нормоцит; меньше 80 fl — как микроцит; больше 100 fl — как макроцит.

Средний объем эритроцита нельзя достоверно определить при наличии в исследуемой крови большого числа анормальных эритроцитов (например, серповидных клеток) или диморфной популяции эритроцитов. MCV в норме приведен в табл. 16.

**Таблица 16.** Средний объем эритроцита в норме [Тиц Н., 1997]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возраст | Женщины, fl | Мужчины, fl |
| Кровь из пуповины1—3 дня1 нед2 »1 мес2 мес3—6 мес0,5—2 года3—6 лет7-12 »13-19 »20-29 »30-39 »40-49 »50-59 »60-65 »>65 » | 98-11895—12188-12686-12485-12377-11577-10872-8976-9076-9180-9682-9681-9880-10082-9980-9980-100 | 98-11895-12188-12686-12485-12377-11577-10870-9976-8976—8179-9281-9380-9381-9482-9481—10078-103 |

Клиническое значение MCV аналогично значению однонаправленных изменений цветного показателя и содержания гемоглобина в эритроците, так как обычно макроцитарные анемии являются одновременно гиперхромными (или нормохромными), а микроцитарные — гипохромными. MCV используют главным образом для характеристики типа анемии, что отражено в приведенной ниже табл. 17.

Изменения MCV могут дать полезную информацию о нарушениях водно-электролитного баланса. Повышенное значение MCV свидетельствует о гипотоническом характере нарушений водно-электролитного баланса, тогда как понижение — о гипертоническом характере.

**Таблица 17.** Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением MCV

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Значения MCV < 80fl** | **Значения MCV > 80 fl и < 100 fl** | **Значения MCV > 100 fl** |
| Микроцитарные анемии:–железодефицитные анемии; –талассемии;–сидеробластные анемииАнемии, которые могут сопровождаться микроцитозом:–гемоглобинопатии;–нарушение синтеза порфиринов–Отравление свинцом | Нормоцитарные анемии:–апластические;–гемолитические;–гемоглобинопатии;–анемии после кровотеченийАнемии, которые могут сопровождаться нормоцитозом:–регенераторная фаза железодефииитной анемии | Макроцитарные и мегалобластные анемии:–дефицит витамина В12, фолиевой кислотыАнемии, которые могут сопровождаться макроцитозом:–миелодиспластические синдромы;–гемолитические анемии;–болезни печени |

**4. Среднее содержание гемоглобина в эритроците. Сущность понятия**

Среднее содержание гемоглобина в эритроците в норме отражено в табл. 18. Этот показатель степени насыщения эритроцита гемоглобином можно рассчитать по формуле:

НЬ (г/л)

R (1012/л),

где R количество эритроцитов в крови

**Таблица 18.** Среднее содержание гемоглобина в эритроцитев норме [Тиц Н., 1997]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возраст | Женщины, пг | Мужчины, пг |
| 1—3 дня1 нед2 »1 мес2 мес3—6 мес0,5—2 года3-12 лет13-19 »20-29 »30-39 »40-49 »150-59 »60-65 »>65 » | 31-3728-4028-4028-4026-3425-3524,0-31,025,5-33,027,0-32,027,5-33,027,0-34,027,0-34,027,0-34,526,5-33,526,0-34,0 | 31-3728-4028-4028-4026-3425-3524,5-29,026,0-31,026,5-32,027,5-33,027,5-33,527,5-34,027,5-34,027,0-34,526,0-35,0 |

Показатель самостоятельного значения не имеет и всегда соотносится с MCV, цветным показателем. На основании этих показателей различают нормо-, гипо- и гиперхромные анемии,

Снижение показателя (т.е. гипохромия) характерно для гипохромных и микроцитарных анемий, включая железодефицитную, анемию при хронических болезнях, талассемию; при некоторых гемоглобинопатиях, свинцовом отравлении, нарушении синтеза порфиринов.

Повышение показателя (т.е. гиперхромия) наблюдается при мегалобластных, многих хронических гемолитических анемиях, гипопластической анемии после острой кровопотери, гипотиреозе, заболеваниях печени, метастазах злокачественных новообразований; при приеме цитостатиков, контрацептивов, противосудорожных препаратов.

**5. Средняя концентрация гемоглобина в эритроците. Определение. Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением этого показателя**

Средняя концентрация гемоглобина в эритроците – показатель насыщенности их гемоглобином. Нормальные величины показателя приведены в табл. 19. В гематологических анализаторах показатель определяется автоматически. Этот параметр можно рассчитать по формуле:

Hb (g/dl)·100

Ht (%)

**Таблица 19.** Средняя концентрация гемоглобина в эритроците в норме [Тиц Н., 1997]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возраст | Женщины, g/dl | Мужчины, g/dl |
| 1-3 дня1 нед2»1 мес2»3—6 мес0,5—2 года3—6 лет7-12 »13-19 »20-29 »30-39 »40-49 »50-59 »60-65 »>65 » | 29,0-37,028,0-38,028,0-38,028,0-38,029,0-37,030,0-36,033,0-33,632,4-36,832,2-36,832,4-36,832,6-35,632,6-35,832,4-35,832,2-35,832,2-35,631,8-36,8 | 29,0-37,028,0-38,028,0-38,028,0-38,029,0-37,030,0-36,032,2-36,632,2-36,232,0-37,032,2-36,432,8-36,232,6-36,232,6-36,432,6-36,232,2-36,932,0-36,4 |

Показатель используют для дифференциальной диагностики анемий. Снижение МСНС характерно для гипохромных железодефицитных анемий, а повышение — для гиперхромных. Снижение МСНС наблюдается при заболеваниях, сопровождающихся нарушением синтеза гемоглобина. Изменения показателя при различных заболевания отражены в табл. 20.

**Таблица 20.** Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением средней концентрацией гемоглобина в эритроците

|  |  |
| --- | --- |
| Повышена | Снижена до уровня < 31 g/dl |
| Гиперхромные анемии:— сфероцитоз, овалоцитозГиперосмолярные нарушения водно-электролитного обмена | Гипохромные анемии:— железодефицитные;— сидеробластические;— талассемииГипоосмолярные нарушения водно-электролитного обмена |

**6. Показатель распределения эритроцитов по объему. Определение**

Показатель распределения эритроцитов по объему (RDW) характеризует вариабельность объема эритроцитов. Аналогичную функцию выполняет кривая Прайс-Джонса. Вместе с тем регистрируемые с помощью гематологических анализаторов эритроцитометрические кривые (гистограммы) не соответствуют кривым Прайс-Джонса. Гистограммы, полученные с помощью гематологических анализаторов, отражают объем эритроцитов, а кривые Прайс-Джонса получают при многочисленных и долгих измерениях диаметра эритроцитов под микроскопом.

**Величины RDW в норме — 11,5—14,5 %.**

Высокое значение RDW означает гетерогенность популяции эритроцитов или наличие в пробе крови нескольких популяций эритроцитов (например, после переливания крови). RDW следует анализировать вместе с гистограммой эритроцитов, которую представляют гематологические анализаторы.

**7. Цветовой показатель**

Цветовой показатель (ЦП) отражает относительное содержание гемоглобина в эритроците. По величине ЦП анемии принято делить на гипо- (ЦП < 0,8), нормо- (ЦП 0,85—1,05) и гиперхромные (ЦП >1,1)•

Гипохромия (снижение ЦП) может быть следствием либо уменьшения объема эритроцитов (микроцитоз), либо ненасыщенности нормальных по объему эритроцитов гемоглобином. Гипохромия является истинным показателем дефицита железа в организме (железодефицитная анемия) или железорефрактерности, т.е. неусвоения железа нормобластами костного мозга, приводящего к нарушению синтеза гема (талассемия, некоторые гемоглобинопатии, нарушения синтеза порфиринов, отравление свинцом).

Гиперхромия (повышение ЦП) зависит только от увеличения объема эритроцита, а не от повышенного насыщения его гемоглобином, поэтому гиперхромия всегда сочетается с макроцитозом. Гиперхромными являются анемии мегалобластные (при дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты); гипопластические (в том числе при гемобластозах и диссеминации злокачественных новообразований); многие хронические гемолитические; сидеробластные (при миело-диспластическом синдроме); острые постгеморрагические; сопутствующие циррозу печени; при гипотиреозе, приеме цитостатиков, контрацептивов, противосудорожных препаратов.

**8. LE – клеточный феномен. Сущность понятия.**

**Причины возникновения**

LЕ-феномен (lupus erythematosus) наблюдается в процессе инкубации периферической крови больных системной красной волчанкой (СКВ) и некоторых других заболеваний аутоиммунной природы. Наиболее распространенным методом исследования LЕ-феномена является метод ротирования крови со стеклянными бусами. Положительный LE-тест включает следующие морфологические образования: *LE-клетки* – чаще всего нейтрофильный лейкоцит, содержащий фагоцитированный гомогенный ядерный материал. Ядерное тело имеет округлую форму, окрашивается в ярко-красный цвет, занимает центральную часть клетки, оттесняя собственное ядро нейтрофилов к периферии, причем клетка с подобным большим включением выглядит в 2 раза крупнее обычной. Истинные LE -клетки необходимо отличать от так называемых tart-клеток, обычно моноцитов с фагоцитированным ядром (поглощенное ядро внутри tart- клетки сохраняет хроматиновую структуру, то есть не имеет такого "гладкого" вида, как ядро LE -клетки, и окрашивается более базофильно); свободно лежащий ядерный материал (гематоксилиновые тела) – образования ядерной природы, округлой формы величиной с 1-2 лейкоцита, по гомогенной структуре и яркокрасной окраске сходные с телами внутри LЕ-клеток; "розетки" - образования из нейтрофилов, кольцом окружающих ядерное тело.

Внеклеточные ядерные (гематоксилиновые тела) и розетки рассматривают как промежуточные этапы образования LE-клеток. Формирование LE-клеток зависит от LЕ-фактора, содержащегося в плазме крови и других жидкостях у больных СКВ и представляющего собой антинуклеарные антитела (главным образом АТ к нуклеопротеину, в меньшей степени к гистону и ДНК), гамма-глобулиновой природы. Взаимодействие фактора с ядром лейкоцита (при инкубации in vitro) ведет к деполимеризации ядерного хроматина, освобождению ядерного материала из клетки и последующему фагоцитозу его нейтрофильными лейкоцитами, причем для фагоцитоза необходимо участия комплемента.

LE-клетки находят в 80% случаев активной СКВ (% положительного LE-теста увеличивается за счет обнаружения свободно лежащих LE-тел и розеток), но также при ревматоидном артрите, активном гепатите, склеродермии и при лекарственных волчаночноподобных синдромах, которые могут возникнуть при приеме гидралазина, некоторых противосудорожных препаратов, прокаинамида, метилдопа.

**9. СОЭ. Определение. Патофизиологические механизмы**

Оседание эритроцитов – свойство крови осаждаться на дне сосудов при сохранении ее несвертывающемся состоянии.

Определение скорости оседания эритроцитов – один из самых старых и наиболее простых анализов, до сих пор проводимых в клинических лабораториях. Он основан на хорошо видимом феномене, который знаком всем, кто когда-либо брал образцы крови. Если образец крови, собранный в пробирку антикоагулянтом, оставить в покое, эритроциты медленно падают (оседают) на дно емкости, оставляя над собой жидкую соломенно-желтую плазму. В конце ХIХ века врачи исследовали этот феномен и открыли, что эритроциты в пробах крови взятой от здоровых добровольцев, оседают медленнее, чем эритроциты крови, взятой от лиц, страдающих рядом заболеваний. Из этих наблюдений родился анализ СОЭ.

***Патофизиологические механизмы***

Скорость, с которой оседают эритроциты, представляет собой комплексный феномен, не до конца понятный и теперь. Эритроциты опускаются на дно капилляра, так как имеют большую плотность, чем плазма, в которой они взвешены. Эритроциты несут на своей поверхности отрицательный заряд, благодаря присутствию белков, связанных с их мембраной. В результате у здоровых лиц электростатические силы стремятся оттолкнуть клетки друг от друга. Эритроциты, таким образом, разделены и падают вниз каждый сам по себе. Если по какой-либо причине они перестают отталкиваться друг от друга, происходит их агрегация с формированием "монетных столбиков". Так как агрегированные эритроциты имеют большую плотность, чем единичные клетки, агрегаты оседают быстрее. Именно эта тенденция клеток преодолевать их обычное отталкивание и агрегировать объясняет повышение СОЭ при различных заболеваниях. Возникает вопрос: что заставляет эритроциты агрегировать. Отчасти причина в плазме, в которой взвешены эритроциты. Некоторые белки плазмы, наиболее заметно фибриноген и иммуноглобулины, действуют как молекулярные мостики между эритроцитами. Присутствуя в больших концентрациях, они заметно повышают агрегацию эритроцитов. Заболевания, связанные с повышением концентрации этих белков, проявляются повышением СОЭ.

Скорость спонтанной седиментации сферических тел в жидкости прямо пропорциональна массе оседающих частиц, разнице в плотности частиц и жидкости и обратно пропорциональна вязкости жидкости. Образование монетных столбиков и агглютинация эритроцитов, увеличивая массу оседающих частиц, ускоряет оседание.

Основным фактором, влияющим на образование монетных столбиков из эритроцитов, является белковый состав плазмы крови. Все белковые молекулы снижают Z-потенциал эритроцитов (отрицательный заряд, обусловленный отрицательно заряженными группами сиаловых кислот на эритроцитарной мембране, который способствует взаимному отталкиванию эритроцитов и поддержанию их во взвешенном состоянии), но наибольшее влияние оказывают асимметричные молекулы – фибриноген, иммуноглобулины, а также гаптоглобин. Влияние каждого из белков на СОЭ изучено экспериментально, например, показано, что ускоряющий эффект фибриногена в 33 раза выше, чем α1-глобулина, в 18 раз выше – β-глобулина и в 3 раза – α2-глобулина. Однако степень ускорения в конечном итоге зависит от взаимоотношения белков с учетом феномена ингибиции (торможения одними белками ускоряющего влияния на оседание эритроцитов других белков).

На Z-потенциал и оседание эритроцитов влияют и другие факторы: рН плазмы (сдвиг в сторону ацидоза – снижает, в сторону алкалоза – повышает СОЭ), ионный заряд плазмы (его снижение ускоряет оседание), содержание желчных кислот и желчных пигментов (увеличение их количества ведет к уменьшению СОЭ), липиды крови (при увеличении содержания холестерина СОЭ увеличивается), вязкость крови (при ее увеличении СОЭ уменьшается), наличие антиэритроцитарных антител (изо - и аутоагглютинины, изменяя специфически эритроцитарную поверхность, способствуют их склеиванию и ускоряют оседание).

Число, форма, и размер эритроцитов также влияют на оседание. Эритроцитопения ускоряет оседание, а эритроцитоз его замедляет, однако при выраженной серповидности, сфероцитозе, анизоцитозе СОЭ может быть низкой, несмотря на анемию, поскольку форма клеток препятствует образованию монетных столбиков. В то же время увеличенные в объеме эритроциты (макроциты) оседают быстрее мелких (микроцитов), это хорошо прослеживается при выраженном анизоцитозе, когда верхняя граница эритроцитарного столба в капилляре оказывается нечеткой из-за разной скорости оседания.

**9.1. Лабораторное определение СОЭ**

Несмотря на небольшие модификации, методика проведения этого анализа осталась неизменной со времени введения ее в практику около 80лет назад. Существуют макро- и микрометоды определения СОЭ. Кровь берут из вены (первая группа методов) или из пальца (вторая группа методов), смешивают с раствором какого-либо антикоагулянта, обычно оксалата или цитрата натрия (1 часть разводящей жидкости и 4 части крови), помещают в градуированный стеклянный сосуд (пипетку) и устанавливают ее вертикально. При оценке СОЭ за постоянную величину принимают время (1ч), относительно которого оценивают переменную величину – оседание.

*Время взятия образца крови*

Отсрочка исследования образца крови более чем на несколько часов может изменить результаты, что зависит от используемого метода. Кровь, взятая накануне, может быть непригодной для анализа. Лучше всего брать кровь во время, удобное для ее отправки в лабораторию.

*Требования к пробе*

Большинство лабораторий предлагают специальные пробирки, предназначены только для СОЭ и специально маркированные, которые содержат антикоагулянт натрия цитрат. Необходимый объем пробы обозначен на этикетке. Важно тщательно перемешать антикоагулянт с кровью, аккуратно переворачивая пробирку.

***Нормы СОЭ***: Муж. – 1-10 мм/ч

Жен: – 2-15 мм/ч

**9.2. Причины повышения СОЭ**

***Клиническая оценка***

Определение СОЭ – один из наименее специфических лабораторных тестов. Другими словами, как повышение температуры или пульса, увеличение СОЭ встречается при многих различных заболеваниях. Изменение белков плазмы, которые вызывают повышенную агрегацию эритроцитов и увеличение СОЭ, – признак любого заболевания, связанного со значительным повреждением тканей, воспалением, инфекцией или злокачественной опухолью. Но, к сожалению, во многих случаях СОЭ может при таких заболеваниях оставаться и нормальной. Более того, известно, что СОЭ иногда может повышаться у здоровых людей. Несмотря на эти аномалии, которые затрудняют интерпретацию результатов СОЭ, этот анализ продолжают использовать в клинической практике. В целом, чем выше СОЭ, тем выше вероятность воспалительного инфекционного или онкологического заболевания.

СОЭ в норме меняется в зависимости от возраста и пола. У новорожденных СОЭ редко выше 2 мм/ч, вероятно из-за высокого гематокрита, малого содержания в крови белков вообще и глобулинов в частности, гипохолестеринемии, ацидоза; СОЭ постепенно повышается с возрастом: примерно на 0,8 мм/ч каждые 5 лет. В среднем дети имеют более низкую скорость оседания (1-8 мм/ч), чем взрослые, а лица среднего возраста меньше, чем старики (согласно данным Weinsaft, только 3% лиц в возрасте от 69 до 94 лет имеют СОЭ до 10 мм/ч, более 50% - от 11 до 30мм/ч, остальные даже выше).

У мужчин СОЭ более низкая, чем у женщин, что зависит от концентрации в крови андрогенных гормонов. СОЭ увеличивается у женщин во время беременности (после 3 месяца) и остается повышенной около 3 недель после родов (что зависит частично от увеличения объема плазмы, повышения содержания в крови глобулинов, холестеринов и падения Са), во время менструации (умерено).

Ускорение СОЭ наблюдается при сухоедении, голодании (СОЭ увеличивается параллельно увеличению в крови фибриногена и глобулинов вследствие распада белков ткани), введении некоторых лекарственных препаратов (контрацептивы, высокомолекулярные декстраны), вакцинации (например, против брюшного тифа) и т. д.

Изменения СОЭ, отмечаемые в патологии, нередко имеют диагностическое, дифференциально-диагностическое, прогностическое значение и могут служить показателем эффективности терапии. Поскольку СОЭ зависит в основном от белковых сдвигов в крови (увеличение содержания фибриногена, α2-глобулинов, особенно α2-макроглобулинав и гаптоглобина, – глобулинов), то увеличение СОЭ наблюдается при всех состояниях, сопровождающихся воспалением, деструкцией соединительной ткани, тканевым некрозом, малигнизацией, иммунными нарушениями.

**9.2.1. Воспалительные заболевания**

Воспалительный ответ на повреждение ткани проявляется аномальным повышением синтеза белков плазмы, включая фибриноген, что провоцирует формирование" монетных столбиков" из эритроцитов и повышает СОЭ.

Таким образом, любая болезнь с острым или хроническим воспалительным компонентом может быть связана с повышением СОЭ. В клинической практике этот анализ используют для дополнительного подтверждения воспаления при диагностике хронических заболеваний, таких как ревматоидный артрит, болезнь Крона и язвенный колит. Определение СОЭ часто используют для наблюдения за активностью процесса при этих состояниях. Повышение показателя у пациентов, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями, например ревматоидным артритом, указывает на активность процесса и, следовательно, отсутствие реакции на проводимую терапию. Напротив, уменьшение СОЭ указывает на стихание воспаления в ответ на терапию.

Хотя СОЭ играет ограниченную диагностическую роль, так как существуют более надежные и специфические тесты, есть два заболевания, при которых только показатель СОЭ отклоняется от нормы. Это височный артериит (иногда называемый гигантоклеточным артериитом) и ревматическая полимиалгия. Первое заболевание представляет собой воспаление артерий, обычно головы и шеи. Относительно часто встречается у пожилых людей, вызывая чувство слабости и сильные головные боли. Иногда (если повреждена глазная артерия) возникают эпизоды слепоты. Ревматическая полимиалгия – воспалительное заболевание, поражающее мышцы и вызывающее сильную мышечную боль. Эти два состояния часто появляются вместе у одного пациента, и оба ассоциируются с очень высокой СОЭ (обычно выше 75 мм/ч). В процессе лечения стероидами СОЭ постепенно возвращается к норме, а анализ используют, чтобы контролировать терапию кортикостероидами. Это единственные состояния, при которых диагноз зависит от результатов определения СОЭ.

**9.2.2. Инфекционные заболевания**

Все инфекционные заболевания связаны с усилением иммунного ответа и повышенной продукцией иммуноглобулинов (антител). Увеличение концентрации иммуноглобулинов в крови повышает тенденцию к формированию "монетных столбиков" из эритроцитов, поэтому все инфекции могут способствовать повышению СОЭ.

При острых инфекциях СОЭ начинает увеличиваться со 2-3го дня от начала заболевания, максимальные показатели отмечаются сравнительно поздно, иногда, например при купозной пневмонии, уже после кризиса, в начальной фазе клинического улучшения. Неувеличенная СОЭ характерна для ранних стадий неосложненных вирусных инфекций (болезни Боткина, коклюша и др.), брюшного тифа, первых суток острого аппендицита. Длительно повышенная СОЭ или новое ее увеличение при инфекциях является диагностическим признаком возникновения осложнений. При рано установленном туберкулезе легких СОЭ часто нормальная, она повышается с прогрессированием процесса или присоединением осложнений (плевральный выпот и т.д.) и может быстро снизиться после начала противотуберкулезной терапии (нередко до рентгенологических признаков улучшения). Активный ревматизм сопровождается повышением СОЭ, но при присоединении сердечной недостаточности кардит может протекать с низкой СОЭ вследствие влияния замедляющих оседание факторов – сгущения крови, ацидоза. Их устранение при восстановлении сердечной компенсации ведет к повышению СОЭ, что, однако не означает ухудшения состояния больного.

В целом бактериальные инфекции чаще, чем вирусные проявляются повышением СОЭ. Особенно высокая СОЭ (выше 75 мм/ч) часто обнаруживается у лиц, страдающих хроническими инфекциями, например подострым бактериальным эндокардитом (инфекция клапанов сердца). Однако в принципе любая бактериальная инфекция может вызвать повышение СОЭ. Показатель СОЭ можно использовать для оценки эффективности терапии у больных, страдающих хронической инфекцией, и для раннего выявления инфекционных осложнений после операций. С высоким риском инфекций связаны ортопедические операции, поэтому в таких случаях некоторые клиники применяют анализ СОЭ.

**9.2.3. Онкологические заболевания**

Многие больные, страдающие раком различных локализаций, имеют высокую СОЭ. Однако этот показатель повышен не у всех пациентов, и его не используют в диагностике рака. При отсутствии инфекционного или воспалительного заболевания значительное повышение СОЭ (выше 75 мм/ч) может вызвать предположение о наличие опухоли и потребовать дальнейших исследований для ее диагностики. Многие авторы полагают, что значительное повышение СОЭ (больше 100 мм/ч) у онкологического больного – надежное подтверждение распространения опухоли за пределы первичного очага (метастазы).

Единственный случай широкого применения анализа СОЭ в онкологической практике – диагностика множественной миеломы, злокачественного заболевания костного мозга с неконтролируемой пролиферацией плазматических клеток, вызывающих деструкцию костей и боли. Эти атипичные плазматические клетки синтезируют огромное количество аномального иммуноглобулина в ущерб продукции нормальных антител. Так как иммуноглобулины являются белками, которые вызывают образование эритроцитарных «монетных столбиков», множественная миелома почти всегда связана с повышением СОЭ (часто выше 100 мм/ч). Таким образом, увеличение СОЭ является одним из важных критериев диагноза множественной миеломы. Моноклональная иммуноглобулинопатия, обычно IgG-типа, отмечается также при лимфосаркоме, некоторых других опухолях (карциноме прямой и сигмовидной кишки, карциноме молочной железы и простаты).

Наконец, СОЭ почти всегда повышена при болезни Ходжкина (злокачественном заболевании лимфатических узлов). Этот анализ не используют для постановки диагноза, но часто применяют, чтобы проконтролировать течение заболевания и эффективность терапии.

**9.2.4. Другие причины повышения СОЭ**

Инфаркт миокарда вызывает повреждение мышечной ткани сердца. Последующий воспалительный ответ на это повреждение включает повышенную продукцию белков плазмы (фибриногена), что вызывает агрегацию эритроцитов и, следовательно, увеличение СОЭ. Таким образом, инфаркт миокарда – весьма частая причина повышения СОЭ. Обычно СОЭ повышается после инфаркта, достигая пика через 1 нед. Постепенное возвращение к норме проходит в течение последующих нескольких недель.

Повышение СОЭ при инфаркте миокарда, нужно оценивать с динамикой лейкоцитоза: лейкоцитоз возникает в первые сутки инфаркта и затем быстро убывает, а увеличение СОЭ начинается через 2-4 дня от начала заболевания и держится дольше (так называемые ножницы кривых лейкоцитоза и СОЭ).

Паренхиматозные поражения печени могут характеризоваться разной степенью увеличение СОЭ, что зависит от различных сочетаний в белковом спектре крови, влияния желчных кислот и других факторов. Так, СОЭ повышается при хроническом активном гепатите (нередко значительно), но может быть низкой при циррозе печени вследствие гипофибриногенемии, гипохолестеринемии, повышенного содержания желчных кислот и билирубина.

Заболевания почек обычно сопровождаются резким ускорением оседания эритроцитов, если протекают с нефротическим синдромом, для которого характерна массивная протеинурия и связанная с ней гипоальбуминемия, гиперфибриногенемия, не только относительная, но и абсолютная гипер-α2-глобулинемия. Увеличение СОЭ свойственно уремии (белковые сдвиги, нарушения электролитного баланса, рН плазмы крови, анемия), раку паренхимы почек, также как злокачественным опухолям другой локализации, особенно с метастазами.

Ускоренное оседание эритроцитов, часто резкое, при системной красной волчанке является важным признаком в оценке активности заболевания (наряду с другими лабораторными показателями – цитопенией крови, LE-клетками, антинуклеарным фактором, уровнем иммуноглобулинов) и выборе адекватной дозы кортикостероидов, а снижение СОЭ – в контроле эффективности лечения и стойкости достигнутой ремиссии. Значительное увеличение СОЭ отражает в известной степени активность патологического процесса (иммунологические сдвиги, степень деструктивных процессов в соединительной ткани) и при других заболеваниях этой группы (узелковый периартериит, склеродермия, дерматомиозит) и ревматоидном артрите, причем при ревматоидном артрите оно может служить вспомогательным дифференциально-диагностическим признаком от обменных артритов и остеоартрозов, протекающих обычно с нормальной СОЭ.

Болезни обмена веществ, например тяжелый сахарный диабет и тиреотоксикоз, сопровождаются повышением СОЭ, нарастающей параллельно выраженности интоксикации и распада тканей и нормализующейся после успешного лечения.

При анемиях степень увеличения СОЭ зависит от числа и свойств самих эритроцитов, она выше при макроцитарных (мегалобластной) и гемолитических (кроме некоторых наследственных форм) анемиях, чем при микроцитарных гипохромных.

Связь степени увеличения СОЭ с отдельными клиническими формами внутренней патологии представлены в таблице 21.

**Таблица 21.** Изменение СОЭ в патологии

|  |  |
| --- | --- |
| Изменение, причины | Клинические формы |
| Значительное увеличение:– опухолевые заболевания– болезни соединительной ткани– тяжелые инфекции– болезни почек– выраженные анемииУмеренное увеличениеНизкая или отсутствие оседания | Множественная миелома и макроглобулинемия Вальденстрема, лимфогранулематоз, лимфома, острый лейкоз, карцинома, саркомаСистемная красная волчанка, узелковый периартериит, склеродермияСептицемия, подострый бактериальный эндокардитГломерулонефрит, амилоидоз, протекающие с нефротическим синдромом, уремияПернициознаяострые и хронические инфекционные заболевания, локализованные гнойные процессы, ревматоидный артрит, геморрагический васкулит, инфаркт миокарда, гипертиреоз, тяжелый сахарный диабет, гепатиты (острый и хронический активный), острый и хронический гломерулонефриты, амилоидоз почек, внутренние кровотечения, интоксикации ртутью и мышьякомЭритремия, анафилактический шок, тяжелая сердечная декомпенсация, неврозы, эпилепсия, серповидноклеточная анемия, гемоглобинопатия С |

**9.3. Причины снижения СОЭ**

Снижение СОЭ встречается намного реже и не имеет большого клинического значения. Аномально высокое количество эритроцитов – эритремия – наиболее вероятная причина понижения показателя. Редкие причины включают серповидно-клеточную анемию и наследственный сфероцитоз. Оба состояния связаны с аномальной формой эритроцитов, что замедляет их оседание.

Низкие показатели СОЭ отмечаются при состояниях, характеризующихся полиглобулией, повышением вязкости крови, ацидозом и гипофибриногенемией.

**ЛЕКЦИЯ № 7**

**ГЕМОСТАЗ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. ГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ ДИАТЕЗЫ. ТРОМБОЦИТОПЕНИИ. ТРОМБОЦИТОПАТИИ**

**План**

1. Нормальная физиология гемостаза.

1.1. Свертывающий каскад. Сущность. Фазы. Факторы свертывания крови.

2. Противосвертывающие механизмы.

2.1. Антикоагулянты.

2.2. Фибринолиз. Сущность. Факторы, влияющие на фибринолиз.

3. Методы исследования гемостаза.

3.1. Исследования коагуляционного гемостаза.

3.2. Исследование микроциркуляторно-тромбоцитарного гемостаза

У здоровых людей кровопотеря вследствие повреждения тканей сводится к минимуму, благодаря способности крови свертываться. Комплекс процессов, благодаря которым в поврежденном сосуде быстро формируется пробка, предупреждающая кровопотерю, а кровь в неповрежденных сосудах остается жидкой, называется нормальным ***гемостазом***. Нарушение этого баланса – признак многих болезненных процессов, которые могут проявляться либо повышенной тенденцией к кровотечению, если свертываемость хуже нормальной, либо формированием в сосудах мелких тромбов, затрудняющих кровоток, если свертываемость повышена. Анализ свертывающей системы крови, наиболее часто используются для обследования пациентов с повышенной тенденцией к кровотечениям. Два из них – определение протромбинового времени (ПВ) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), используются для мониторинга во время антикоагулянтной терапии у лиц с высоким риском образования тромбов.

1. **Нормальная физиология гемостаза.**

Последовательность событий, которые ведут к формированию стабильного фибринового сгустка и прекращению кровотечения из поврежденного сосуда, показана на рис. 3.

Снижение кровотока в поврежденном участке в поврежденном участке уменьшает кровопотерю. Повреждение сосуда также вызывает два важных физиологических ответа. Первый – адгезия и агрегация кровяных пластинок



**Рис.3.** Схема нормального гемостаза

с формированием пробки из них, второй – запуск так называемого свертывающего каскада, который заканчивается образованием белка фибрина. Нити фибрина формируют вокруг и между агрегатами тромбоцитов, делая устойчивой образовавшуюся тромбоцитарную пробку.

Нормальный гемостаз в первую очередь зависит от двух факторов:

* адекватного числа нормально функционирующих тромбоцитов;
* нормально функционирующего свертывающего каскада.

Чтобы понять нарушения гемостаза, вызванные заболеваниями, и оценить лабораторные анализы при этих заболеваниях, необходимо изучить эти факторы детально. Образование тромбоцитов, их структуру, функции и участие тромбоцитов в первичном гемостазе мы подробно рассматривали ранее.

**1.1. Свертывающий каскад. Сущность. Фазы.**

**Факторы свертывания крови**

В процессе агрегации тромбоцитов у стенки сосуда, благодаря работе свертывающего каскада, образуется фибрин. Это серия реакций, в которой белки, находящиеся в плазме и называемые *факторами*, последовательно активируются. Каждый активированный фактор вызывает активацию следующего, и так до конца каскада, конечным продуктом которого является фибрин. Все реакции ферментативные. В своем неактивном состоянии факторы являются проферментами, т. е. не могут участвовать в реакции. Каждая реакция каскада превращает профермент в соответствующий фермент. Часть факторов не являются проферментами/ферментами, некоторые из них – вещества, которые помогают протеканию ферментативной реакции (коферменты или кофакторы). Было идентифицировано 13 факторов, обозначенных по договоренности римскими цифрами по порядку, в котором они были открыты (табл. 22). Фактор VI теперь не считают самостоятельно существующим.

Упрощенная современная схема свертывающего каскада крови изображена на рис. Каскад состоит из внешнего и внутреннего путей, которые вместе приводят к активации фактора Х. Путь от активированного фактора Х к образованию фибрина, называют общим путем.

Внутренний путь начинает работать, когда фактор ХII активируется путем контакта со структурным белком коллагеном, выделившимся в результате нарушения целостности сосудистой стенки. Активированный фактор XII далее активирует фактор XI, который в свою очередь активирует фактор X. Для протекания этой последней реакции необходимы кофакторы – фактор VIII (антигемофильный) и фактор IV (кальций). Активированный фактор Х (Ха) в сочетании с фосфолипидом, фактором V и кальцием (протромбиназе) участвует в превращении протромбина.

Активация фактора XII возможна также in vivo при контакте с коллагеном и другими компонентами соединительной ткани, под влиянием эндотоксина, комплексов АГ-АТ, катехоламинов. Каталитическое действие на внутренний механизм гемостаза оказывает тромбин путем активации факторов VIII и V. В начальной фазе свертывания принимают участие компоненты калликреин-кининовой системы, которая связана с системой коагуляции через фактор контакта (фактор Хагемана). Активированный фактор Хагемана превращает прекалликреин (фактор Флетчера) в активный калликреин, который активирует кининогены высокой молекулярной массы в кинины. Кининовый компонент – фактор Фитцжеральда выступает как "контактный активаторный кофактор", необходимый для взаимодействия факторов XI и XII. В то же время показано, что прекалликреин (фактор Флетчера) обладает способностью активировать фактор XI и функционировать как активатор фактора VII. Наличие подобного механизма in vivo означает существование связи – "калликреинового моста" между внешним и внутренним механизмами свертывания. Внешний путь запускается фактором III. Это вещество называется тромбопластином, находится в большинстве тканей и высвобождается в кровь при их повреждении. Фактор III активирует фактор VII, который в свою очередь активирует фактор IX. В конце общего пути активированный фактор Х активирует фактор II (протромбин), который превращается в активный тромбин, конвертирующий фибриноген в фибрин. Фактор V является кофактором, нужным для превращения протромбина в тромбин.

Большинство факторов, включая фибриноген, протромбин и факторы V, VII, IX, X, XI, и XII, синтезируются в печени и выходят из нее в кровь в неактивной форме. Синтез факторов II, VII, IX, и X в первую очередь зависит от витамина К. Источниками последнего служат пища и обитающие в кишечнике бактерии, синтезирующие витамин К.

Весь процесс свертывания крови условно можно разделить на 3 фазы:

Фаза 1 – формирование активной протромбиназы, необходимой для превращения протромбина (неактивного предшественника) в тромбин.

Фаза 2 – тромбинообразование, состоит в превращении протромбина в тромбин под влиянием активного комплекса – протромбиназы. В основе превращения протромбина лежит расщепление его молекулы на фракции, одна из которых с молекулярной массой 37000 переводится фактором Ха в тромбин.

Фаза 3 – фибринообразование, состоит в превращении фибриногена в фибрин при участии тромбина. Тромбин отщепляет от фибриногена по два пептида А и В (всего 4 фибринопептида), что ведет к полимеризации оставшихся фибрин-мономеров с образованием фибринполимера, растворимого в мочевине. Стабилизация молекулы фибрина происходит под влиянием активированного тромбином XIIIа и состоит в формировании поперечных глютамин-лизиновых связей между единицами фибрина (реакция трансамидинирования, катализируемая ионами кальция), в результате чего образуются прочная (нерастворимая в мочевине, монохлоруксусной кислоте и других растворителях) фибриновая сетка.

Образование фибрина, таким образом, зависит от адекватной концентрации всех свертывающих факторов, что в свою очередь обусловлено:

* нормальной функцией печени;
* адекватным поступлением витамина К с пищей;
* нормальной флорой желудочно-кишечного тракта;
* нормальным всасыванием витамина К;

**Таблица 22.** Свертывающие факторы крови

|  |  |
| --- | --- |
| Фактор Другое название | Примечание |
| І ФибриногенІІ ПротромбинІІІ Тканевый тромбопластинІV КальцийV Лабильный факторVI Полагают не существующимVII ПроконвертинVIII Антигемофильный факторIX Фактор КристмасаX Фактор СтюартаXI Плазменный предшественник тромбопластинаXII Фактор ХагеманаXIII Фибринстабилизирующий фактор | Гликопротеин, предшественник фибрина, синтезируемый в печениПрофермент, синтезируемый в печениЛипопротеин, имеющийся во многих тканях; запускает внешний путь свертыванияНеорганический ион; кофакторБелок, кофактор, синтезируемый в печениПрофермент, синтезируемый в печениБелок, кофакторПрофермент, синтезируемый в печениПрофермент, синтезируемый в печениПроферментПроферментПрофермент |

|  |  |
| --- | --- |
| http://textarchive.ru/images/636/1271144/m79b26a77.gifФактор ХІІаФактор ХІІhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m786a2e44.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m324f348c.gifФактор ХІ Фактор ХІаhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m79b26a77.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5d3cc287.gifФакторІХ Фактор ІХаhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/3eaaddf.gifФактор Х**Внутренний путь**ФакторХа | http://textarchive.ru/images/636/1271144/4ffff7ae.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/4017a9fa.gifФакторІІІhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gif(тканевой)ФакторVIIahttp://textarchive.ru/images/636/1271144/7d558a9f.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/m72f46012.gifФакторVIIhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/5217d089.gifФакторХ**Внешний путь** |
| Фактор VIII кофактор, необходимыйдля активизации фактора ХФактор V кофактор, необходимый, для превращения протрамбина в тромбинКальций (фактор IV) необходимдля активизации фактора Х и превращения протромбина в тромбин | Пhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/34440d8b.gifротромбин Тромбин(http://textarchive.ru/images/636/1271144/32a8d3d4.gifФактор II)Фибриногенhttp://textarchive.ru/images/636/1271144/45264c2b.gif(Фактор І) ФИБРИНОбщий путь |

**Рис.4.** Образование фибрина в свертывающем каскаде крови

**2. Противосвертывающие механизмы**

В организме в норме свертывание находится под строгим контролем противосвертывающего звена, направленного на ограничение процесса коагуляции местом повреждения и предотвращение его распространения на весь кровоток. Противосвертывающие механизмы представлены разнообразными антикоагулянтами и фибринолизом.

**2.1. Антикоагулянты**

Антикоагулянты могут быть как физиологическими, естественно существующими в организме или возникающими в процессе свертывания крови и фибринолиза, так и патологическими (иммунные ингибиторы отдельных факторов свертывания, появляющиеся при ряде патологических состояний и под влиянием лекарств; парапротеины, макро- и криоглобулины).

Ингибиторные механизмы существуют на каждой фазе свертывания крови. Известную роль в предотвращении вступления тромбоцитов и контактных факторов свертывания в процесс коагуляции играет нормальный эндотелий сосудов. Из известных *антикоагулянтов 1-й фазы свертывания* наибольшее физиологическое значение имеют ингибитор активированного фактора XI (XIa), относящийся к α2-глобулинам, и антитромбопластины (ингибиторы комплекса фактор III-фактор VIIa).

*К ингибиторам 2-й фазы коагуляции крови* относится антитромбин III- α2-глобулин крови, синтезируемый в печени; ингибирует не только тромбин, но и другие активированные факторы свертывания – Xa, IXa, XIa, XIIa, калликреин. Антитромбин III является кофактором гепарина, взаимодействие с которым проявляет или значительно усиливает ингибиторный эффект обоих антикоагулянтов. На антитромбин III приходиться большая часть спонтанной антикоагулянтной активности крови, что определяет его ведущую роль в поддержании жидкого состояния крови и предупреждении тромбозов. Доля других естественных антитромбинов - α2-макроглобулина и α1-антитрипсина составляет лишь около 25% антикоагулянтной активности дефибринированной плазмы крови.

В настоящее время неизвестны предсуществующие ингибиторы 3-й фазы коагуляции, но многие прокоагулянты и их производные в процессе свертывания и фибринолиза приобретают антикоагулянтные свойства. Так, формирование фибрина тормозиться адсорбцией тромбина фибриновым свертком (вследствие этого фибрин обозначают как антитромбин I). Имеются указания, что и фибринопептиды, отщепляемые от фибриногена тромбином, оказывают антикоагулятное действие (против фактора II).

Самоторможение наблюдается на всех этапах свертывания, одни и те же факторы могут выступать вначале как коагулянты, а затем антикоагулянты. Так, тромбин отщепляет от протромбина ингибитор фактора Ха, фактор Va после участия в свертывании начинает тормозить превращение протромбина в тромбин, фактор ХIa после взаимодействия с фактором XII и фактором IX тормозит фактор XIIa. Антикоагулянтными свойствами (антитромбиновым, антиполимеразным и противоадгезивным) обладают продукты расщепления (деградации) фибриногена и фибрина (ПДФ), образующиеся в процессе ферментативного фибринолиза. ПДФ резко удлиняют тромбиновое время, и, соединяясь с фибрин-мономерами или фибриногеном, препятствуют образованию фибрина. Наконец, комплексы гепарина с прокоагулянтами и плазмином оказывают антикоагулянтное действие, нарушая стабилизацию фибрина фактором XIII и способствуя его лизису.

**2.2. Фибринолиз. Сущность. Факторы, влияющие на фибринолиз**

Фибринолиз осуществляется протеолитической ферментной системой крови – плазминоген-плазмин. Превращение плазминогена (неактивный предшественник плазмина) в активную форму происходит с помощью активаторов, которые находятся в плазме крови, моче, различных тканях (матке, щитовидной железе, легких, поджелудочной железе, простате); образуясь, по-видимому, в эндотелии сосудов, особенно вен, венул, пульмональных артерий. Обнаруживаемый в моче активатор (урокиназа) продуцируется почкой и оказывает более выраженное фибринолитическое действие, чем тканевые активаторы. Способностью активировать плазминоген обладают и некоторые продукты бактериального происхождения, в частности стрептокиназа. Стрептокиназа не является прямым активатором: вначале образуется комплекс стрептокеназа – плазминоген, затем этот комплекс активирует плазминоген. Таким образом, плазминоген может играть роль как проактиватора, так и субстрата для активации.

Уровень активаторов плазминогена в крови повышается после физической нагрузки, стресса, введения никотиновой кислоты, пирогена. Ведущим естественным стимулятором фибринолитической системы является внутрисосудистая коагуляция, причем в активации плазминогена участвует фактор XIIa (при вовлечении калликреин-кининовой и комплементарной систем), а также тромбин и фибрин.

Под влиянием активаторов происходит ферментативное расщепление молекулы плазминогена и образуется плазмин, обладающий выраженным протеолитическим свойством в отношении фибрин-фибриногена (кроме того, факторов VIII и V, комплекта, некоторых гормонов и других белков). Лизис фибриногена происходит в несколько этапов. Вначале, после отделения мелких фрагментов А, В, С, формируется высокомолекулярная Х-фракция. Затем она распадается на D-и Y-фракции. В дальнейшем Y-фракция расщепляется на вторую D- и дополнительную Е-фракцию. D-и Е-фракции – это конечные продукты деградации фибриногена. Деградация плазмином растворимого фибрина сходна с таковой фибриногена за исключением того, что на первом этапе отсутствуют мелкие фрагменты - фибринопептиды А и В. Деградация стабилизированного фибрина отличается образованием вместо D-фракции двойного по размеру фрагмента D-димера.

Ферментативный фибринолиз поддерживают комплексные соединения гепарина с фибриногеном, адреналином, мочевиной, плазминогеном, обладающие способностью лизировать нестабилизированные сгустки фибрина (неферментативный фибринолиз). Фибрин может лизироваться протеазами, выделяемыми лейкоцитами, которые участвуют в фибринолизе также благодаря освобождению лейкоцитарных активаторов плазминогена и фагоцитозу продуктов расщепления фибрина. В плазме обнаруживаются и антиактиваторы, ингибирующие активаторы плазминогенов в крови, а также относящийся к альфа-глобулинам антиплазмин, который функционирует как регулятор и ограничитель интенсивности фибринолиза. Считают, что активация плазминогена легче происходит в тромбе, где он адсорбируется фибрином и становится менее доступен для антиплазмина, не обладающего такой способностью.

Терапевтическую стимуляцию фибринолиза проводят с помощью ферментов бактериального происхождения (стрептокиназа и др.) или урокиназы. С целью ингибиции фибринолиза употребляет синтетические аминокислоты, действующие в основном как антиактиваторы, а также антипротеазы животного и растительного происхождения – трасилол, контрикал, ингибитор из соевых бобов и др.

Физиологическое значение фибринолиза велико, т.к. благодаря ему из кровотока удаляется фибрин и образуются высокоактивные антикоагулянты и дезагреганты.

**3. Методы исследования гемостаза**

Методы исследования гемостаза группируются в зависимости от задач исследования.

**3.1. Исследование коагуляционного гемостаза**

Наиболее общее представление о коагуляции дает *время свертывания цельной крови*.

Простым и удобным является ***метод Моравица***: на часовое стекло наносят каплю крови, взятой из пальца или мочки уха, диаметром 4—6 мм. Тонким запаянным стеклянным капилляром (концом пастеровской пипетки) проводят каждые 30с по поверхности капли. Время свертывания определяют в момент появления первых фибриновых нитей, тянущихся за капилляром.

В ***методе Ли—Уайта*** используют венозную кровь, пробирку с 1 мл венозной крови устанавливают на водяной бане при 37°С и включают секундомер. Через каждые 30 с пробирку наклоняют на 45°. Время от момента взятия крови до появления сгустка является временем свертывания крови.

У здоровых людей ***время свертывания цельной крови составляет 5-8 мин***.

Общую оценку конечного этапа свертывания крови дает ***тромбиновое время***, т. е. время свертывания цитратной плазмы крови обследуемого лица под влиянием стандартной дозы тромбина.

В клинике определение тромбинового времени чаще всего преследует следующие цели:

* контроль за гепаринотерапией, особенно при использовании гепарина с высоким молекулярным весом;
* контроль над фибринолитической терапией;
* диагностика гиперфибринолитических состояний;
* диагностика афибриногенемии и дисфибриногенемии.

***В норме тромбиновое время 14—16с.***

Удлинение тромбинового времени может быть связано с выраженной гипофибриногенемией, молекулярными аномалиями фибриногена (см. ниже); избытком в крови гепарина и других антитромбинов; накоплением в крови продуктов деградации фибриногена (ПДФ), оказывающих антитромбиновый эффект, блокирующих фибриноген и фибрин-мономеры с нарушением их полимеризации; парапротеинемией с адсорбцией патологических белков на факторах свертывания и препятствием полимеризации фибрина.

Определение тромбинового времени является одним из распространенных методов контроля над лечением гепарином и фибринолитиками. В этих случаях Тромбиновое время должно увеличиваться в 2-3 раза. При проведении тромболитической терапии определение тромбинового времени рекомендуется проводить каждые 4.

***Фибриноген (фактор I)*** — белок, синтезирующийся в основном в печени. В крови он находится в растворенном состоянии, но в результате ферментативного процесса под воздействием тромбина и фактора ХШа может превращаться в нерастворимый фибрин. Нормальные величины концентрации фибриногена в плазме приведены в табл. 23.

**Таблица 23.** Содержание фибриногена в плазме в норме

|  |  |
| --- | --- |
| Возраст | Концентрация фибриногена |
| мг/дл | г/л |
| НоворожденныеВзрослые | 125-300200-400 | 1,25-3,002,00-4,00 |

Повышение концентрации фибриногена или ее снижение отмечено при следующих состояниях и заболеваниях:

1) гиперкоагулемия при различных стадиях тромбоза, инфаркте миокарда, а также в последние месяцы беременности, после родов, после хирургических операций;

2) воспалительные процессы, в частности при пневмониях. В связи с этим используют определение концентрации фибриногена в плазме параллельно с определением СОЭ для контроля над течением воспалительного процесса;

3) неопластические процессы, особенно при раке легкого;

4) легкие формы гепатита (концентрация фибриногена может быть повышена). Тяжелые поражения печени (острый гепатит, цирроз) сопровождаются снижением концентрации фибриногена;

5) наследственные афибриногенемии и гипофибриногенемии, первичный фибринолиз (концентрация фибриногена снижена);

Для выявления заблокированных ПДФ фибриногена и фибринмономеров, что характерно для диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром), применяют так называемые паракоагуляционные пробы (этаноловый, протамин-сульфатный, бета-нафтоловый) и тесты с протеазами из некоторых змеиных ядов. Один из них приведен ниже, с методикой выполнения других можно познакомиться на практических занятиях.

*Определение рептилазового времени* (метод Soria с соавт.), т. е. времени свертывания ц итратной плазмы крови под влиянием тромбиноподобного гемокоагулирующего ферментного препарата из яда бразильской гремучей змеи (рептилаза Р). Исследуемую плазму крови (0,1 мл) ставят в водяную баню при 37°С. Через 1 мин добавляют 0,2 мл раствора рептилазы (такой активности, при которой время свертывания донорской плазмы равно 28-32 с) и засекают время образования сгустка, через равные промежутки времени вынимая пробирку и слегка ее наклоняя.

***Нормальные показатели 28-32с.***

Рептилазовое время оценивают в сопоставлении с тромбиновым временем. Поскольку на коагулирующие свойства рептилазы не влияет гепарин (и другие антитромбины), то неудлиненное рептилазовое время при удлиненном тромбиновом свидетельствует о гипергепаринемии. Рептилаза способна свертывать часть фибриногена, заблокированного ПДФ, поэтому при резком удлинении тромбинового времени (иногда до полного прекращения свертывания), наблюдаемого в течение ДВС-синдрома, рептилазовое время удлиняется в меньшей степени.

Снижение активности (дефицит) фибриназы (фактор XIII) не отражается на тромбиновом времени. Для его выявления исследуют растворимость образовавшихся сгустков фибрина в 5 М мочевине и 1% растворе монохлоруксусной кислоты

Сгустки, не стабилизированные фактором ХIII, быстро лизируются, в то время как стабилизованные сгустки устойчивы к данным растворителям.

Если конечный этап свертывания не нарушен (тромбиновое время нормальное), то раздельно оценивают внешний и внутренний механизмы активации свертывания (формирование протромбиназы, трансформирующей протромбин в тромбин).

Внешний механизм суммарно оценивают с помощью *теста протромбинового времени по Квику* (времени свертывания рекальцифицированной цитратной плазмы при добавлении к ней тканевого тромбопластина стандартизованной активности).

***Метод Квика.***В пробирку вносят 0,1 мл испытуемой плазмы крови, 0,1 мл суспензии тромбопластина (активность тромбопластина тестируется на нормальной донорской плазме), ставят в водяную баню при 37°С на 60 с. Затем приливают 0,1 мл 0,025 М хлорида кальция и включают секундомер. Отмечают время свертывания крови. Опыт повторяют 2-3 раза и определяют средний арифметический показатель.

***Протромбиновое время*** при стандартизованном тромбопластине ***в норме составляет 12-15с.***

Увеличение протромбинового времени говорит о наклонности к гипокоагуляции и может зависеть от различных причин:

* недостаточность одного или нескольких факторов протромбинового комплекса при таких редких наследственных коагулопатиях, как гипопроконвертинемия (дефицит фактора VII) и гипопротромбинемия (дефицит фактора II);
* отмечаемое иногда при амилоидозе увеличение протромбинового времени, связанное с дефицитом фактора X, который поглощается амилоидом, а при нефротическом синдроме – с дефицитом факторов VII и V, которые выделяются с мочой;
* синтез факторов протромбинового комплекса в клетках печени, при заболеваниях которой количество их снижается, и протромбиновое время в определенной степени может служить показателем функционального состояния печени. Увеличение протромбинового времени отмечается при острых гепатитах, хронических гепатитах, циррозах печени, при подострой дистрофии печени и других поражениях паренхимы печени и является плохим прогностическим признаком. При этом причиной увеличения протромбинового времени может стать и развивающееся в результате уменьшения поступления желчи в кишечник нарушение всасывания витамина К, который необходим для синтеза факторов протромбинового комплекса. Такова же причина увеличения протромбинового времени и при механической желтухе;
* энтеропатия и кишечные дисбактериозы, ведущие к недостаточности витамина К, также могут сопровождаться увеличением протромбинового времени;
* при лечении антагонистами витамина К – антикоагулянтами непрямого действия – нарушается конечный этап синтеза факторов протромбинового комплекса, и протромбиновое время удлиняется.
* потребление факторов протромбинового комплекса при остром ДВС-синдроме ведет к довольно раннему увеличению протромбинового времени (в 2 раза и более);
* при хроническом панкреатите, раке поджелудочной железы и желчного пузыря увеличение протромбинового времени может быть результатом поражения печени и (или) развития ДВС-синдрома;
* афибриногенемия, гипофибриногенемия (снижение содержания в крови фибриногена до 1 г/л и ниже), а также избыточное содержание гепарина в крови ведут к увеличению протромбинового времени;
* удлинение протромбинового времени выявляется при острых и хронических лейкозах вследствие развития ДВС-синдрома;
* повышение уровня антитромбина или антитромбопластина в крови также ведет к удлинению протромбинового времени;
* целая группа лекарственных препаратов способна удлинять протромбиновое время: анаболические стероиды, антибиотики, ацетилсалициловая кислота (в больших дозах), слабительные средства, метотрексат, никотиновая кислота, хинидин, хинин, тиазидные диуретики, толбутамид;

Укорочение протромбинового времени говорит о наклонности к гиперкоагуляции и может быть отмечено в начальных стадиях тромбоза глубоких вен нижних конечностей, при полицитемии, в последние месяцы беременности. Укорочение протромбинового времени вызывают следующие лекарственные препараты: ацетилсалициловая кислота (в небольших дозах), меркаптопурин, пероральные контрацептивы. Определению протромбинового времени отводится ведущая роль в контроле за пероральной антикоагулянтной терапией.

Поскольку могут быть отклонения в активности отдельных серий тромбопластина, то прибегают к вычислению протромбинового индекса по формуле: ·100, где А — протромбиновое время плазмы крови донора; Б– протромбиновое время исследуемого лица В норме этот показатель равен 80-100%.

Важно также определение ***фактора II (протромбина)*** в плазме крови. Активность фактора II в плазме в норме — 0,5-1,5 кЕД/л, или 60-150 %.

Фактор II относится к эуглобулинам, являясь гликопротеидом. Под действием факторов Ха и V, фосфолипидов и кальция протромбин расщепляется, образуя тромбин. Фактор II синтезируется в печени при участии витамина К.

Уровень содержания протромбина или его функциональная полноценность снижается при эндо- и экзогенной недостаточности витамина К, когда синтезируется неполноценный протромбин, что наблюдается при тяжелых поражениях печени и желудочно-кишечного тракта. Отмечаются и врожденные дефекты фактора II. Непрямые антикоагулянты снижают содержание фактора II в крови за счет угнетения его синтеза.

На основании содержания протромбина можно судить о функциональном состоянии печени. Снижение содержания протромбина при заболеваниях печени наблюдается значительно чаще, чем удлинение протромбинового времени.

Время свертывания крови нарушается лишь при концентрации протромбина ниже 40 %. Минимальный уровень активности протромбина в крови для выполнения операций — 20-40 %, при более низком содержании риск развития послеоперационных кровотечений чрезвычайно велик.

Минимальный уровень активности протромбина в крови для остановки кровотечения — 10-15 %, при более низком содержании остановка кровотечения без введения больному протромбина невозможна.

При нормальном тромбиновом времени нарушения внешнего механизма могут быть обусловлены дефицитом факторов VII, X, V или II, поскольку все они определяются протромбиновым временем.

***Фактор VII (проконвертин)***

*Активность фактора VII в плазме в норме — 65-135 %.*

Фактор VII (проконвертин, или конвертин) относится к альфа-2-глобулинам и синтезируется в печени при участии витамина К. В основном участвует в образовании тканевой протромбиназы и превращении протромбина в тромбин. Период его полураспада составляет 4- 6 ч (самый короткий период полураспада у факторов свертывания).

Врожденный недостаток фактора VII обуславливает развитие геморрагического диатеза (болезнь Александера).

Приобретенные формы гипопроконвертинемии встречаются у младенцев в первые дни жизни, у больных с поражением печени, а также в результате действия непрямых антикоагулянтов. Отмечается снижение активности проконвертина в плазме крови у больных вирусным гепатитом, циррозом печени, при остром алкогольном гепатите, хроническом персистирующем гепатите. У больных с циррозом печени просматривается отчетливая связь между снижением уровня проконвертина и тяжестью процесса. Из-за короткого периода полураспада снижение активности проконвертина является лучшим маркером развития печеночной недостаточности.

Минимальный гемостатический уровень активности фактора VII в крови для выполнения операций составляет 10-20 %, при более низком содержании риск развития послеоперационных кровотечений чрезвычайно велик. Минимальный гемостатический уровень активности фактора VII в крови для остановки кровотечения — 5-10 %, при более низком содержании остановка кровотечения без введения больному фактора VII невозможна.

***Фактор V (проакцелерин)***

*Активность фактора V в плазме в норме – 0,5-2,0 кЕД/л, или 60-150%.*

Фактор V (проакцелерин) — белок, полностью синтезируемый в печени. В отличие от других факторов протромбинового комплекса (II, VII и X) его активность не зависит от витамина К. Он необходим для образования внутренней (кровяной) протромбиназы, активируя фактор X для превращения протромбина в тромбин. В случаях дефицита фактора V в различной степени нарушаются внешний и внутренние пути образования протромбиназы. В коагулограмме это проявляется увеличением протромбинового времени; АЧТВ и тромбиновое время остаются в пределах нормы.

Непрямые антикоагулянты не оказывают заметного влияния на содержание фактора V в крови.

Активность проакцелерина определяют для выявления как врожденного, так и приобретенного дефицита фактора V.

Внутренний механизм формирования активного тромбина включает ***факторы XII, XI, IX, VIII, X, V, II,*** но последние три фактора оцениваются протромбиновым временем, поэтому при нормальных тромбиновом и протромбиновом времени нарушения внутреннего механизма свертывания зависят только от факторов XII, XI, IX и VIII.

***Фактор XII (Хагемана)***

*Активность фактора XII в плазме в норме — 65-150 %.*

Фактор XII – фактор контакта Хагемана – сиалогликопротеид, активирующийся коллагеном, контактом с чужеродной поверхностью, адреналином и рядом протеолитических ферментов (в частности плазмином).

Фактор XII – инициатор внутрисосудистой коагуляции; кроме того, фактор ХІІа переводит прекалликреины плазмы в ферменты калликреины. Активный фактор XII служит активатором фибринолиза.

При дефиците фактора XII в коагулограмме увеличено время свертывания крови и АЧТВ без признаков кровоточивости.

В клинической практике определение активности фактора XII используется главным образом для диагностики врожденного дефицита этого фактора. Дефицит фактора XII должен быть заподозрен всегда, когда определяется значительное удлинение времени свертывания крови и АЧТВ. В большинстве случаев дефект Хагемана наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Между степенью нарушения свертываемости крови и дефицитом фактора XII имеется строгое соответствие: при резко выраженной гипокоагуляции уровень активности этого фактора в плазме не превышает 2% и чаще бывает ниже 1%; при умеренном нару шении свертываемости он колеблется от 3 до 9%. Если активность фактора XII в плазме составляет 10% и более, время свертывания крови, АЧТВ и другие тесты нормализуются.

***Фактор XI (антигемофильный фактор С)***

*Активность фактора XI в плазме в норме — 65-13 %.*

Фактор XI – антигемофильный фактор С – гликопротеид. Активная форма этого фактора (ХІа) образуется при участии факторов XIІа, Флетчера и Фитцжеральда-Фложе. Форма ХІа активирует фактор IX. При дефиците фактора XI в коагулограмме удлинено время свертывания крови и АЧТВ.

В клинической практике определение активности фактора XI используется главным образом для диагностики гемофилии С и для того, чтобы отдифференцировать дефицит фактора XI от дефицита фактора XII.

Врожденную недостаточность фактора XI называют болезнью Розенталя, или гемофилией С. Это наследственное заболевание чаще выявляют у евреев и наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Болеют мужчины и женщины. Кровоточивость в основном отмечается после травм и операций.

Приобретенная недостаточность фактора XI отмечается главным образом при ДВС-синдроме вследствие его потребления, при приеме антикоагулянтов, при внутривенном введении декстрана.

***Фактор IX (Кристмас-фактор)***

*Активность фактора IX в плазме в норме — 60-140 %.*

Фактор IX (Кристмас-фактор, антигемофильный глобулин В) относится к β-глобулинам, принимает активное участие в первой фазе (протромбиназообразование) плазменного гемостаза. Фактор IX образуется в печени. Поэтому его содержание в крови больных гепатитами, циррозами печени, а также у принимающих производные дикумарина и индадиола снижается. Выработка фактора IX регулируется геном в Х-хромосоме, в локусе, отстоящем от гена ключевого фермента синтеза фактора VIII. Этот ген мутирует в 7-10 раз реже, чем ген фермента синтеза фактора VIII. Вот почему из всех гемофилий гемофилия А обнаруживается у 87-94 % больных, а гемофилия В (врожденный недостаток фактора IX – болезнь Кристмаса) – у 8-15 % больных.

В процессе свертывания крови фактор IX не потребляется.

Определение фактора IX играет важнейшую роль в диагностике гемофилии В. С дефицитом фактора IX связывают большинство кровотечений при острых заболеваниях печени.

В зависимости от уровня фактора IX разделяют следующие клинические формы гемофилии В: крайне тяжелая форма — концентрация фактора IX от 0 до 1%, тяжелая форма — от 1 до 2%, средней тяжести — от 2 до 5%, легкая форма или субгемофилия — от 6 до 24%. У больных легкой формой клинические проявления заболевания возникают после травм и хирургических вмешательств. Определенные трудности вызывает определение группы «носителей» гемофилии В. К этой группе могут быть отнесены женщины, у которых при повторных исследованиях выявлено содержание фактора IX ниже 40 %, но выше 24 %.

Приобретенный дефицит фактора IX обнаруживается при заболеваниях печени, болезни Гоше, у больных с нефротическим синдром.

***Фактор VIII (антигемофильный глобулин А)***

*Активность фактора VIII в плазме в норме — 60-145 %.*

Фактор VIII свертывания плазмы — антигемофильный глобулин А – циркулирует в крови в виде комплекса из трех субъединиц, обозначаемых VIII-к (коагулирующая единица), VIII-АГ (основной антигенный маркер) и VIII-ФВ (фактор Виллебранда, связанный с VIII-АГ). Считают, что VIII-ФВ регулирует синтез коагуляционной части антигемофильного глобулина (VIII-к) и участвует в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе. Фактор VIII синтезируется в печени, селезенке, клетках эндотелия, лейкоцитах, почках и принимает участие в первой фазе (протромбиназообразование) плазменного гемостаза.

Определение фактора VIII играет важнейшую роль в диагностике гемофилии А (см далее).

Развитие гемофилии А обусловлено врожденным недостатком фактора VIII. При этом в крови больных фактора VIII нет (гемофилия А–) или он находится в функционально неполноценной форме, которая не может принимать участия в свертывании крови (гемофилия А+). Гемофилия А– встречается у 90-92 % больных, а гемофилия А+ – у 8-10 % .У больных гемофилией резко снижено содержание в плазме крови VIII-к, а концентрация в ней VIII-ФВ может находится в пределах нормы. Поэтому время длительности кровотечения при гемофилии А находится в нормативных пределах, а при болезни Виллебранда – удлинено.

Гемофилия А – наследственное заболевание, однако у 20-30 % больных гемофилией семейный анамнез со стороны родственников матери никакой информации не дает. Поэтому определение активности фактора VIII имеет большую диагностическую ценность. В зависимости от уровня активности фактора VIII разделяют следующие клинические формы гемофилии А: крайне тяжелая форма (активность фактора VIII от 0 до 1%); тяжелая форма (активность фактора VІІI от 1 до 2%); средней тяжести (активность фактора VIII от 2 до 5%); легкая форма, или субгемофилия (активность фактора VIII от 6 до 24%).

Около трети носителей гемофилии А имеют уровень активности фактора VIII между 25 и 49 %. У больных легкой формой и носителей гемофилии А клинические проявления заболевания отмечаются только после травм и хирургических вмешательств.

Активность фактора VIII значительно повышается после спленэктомии.

В зависимости от уровня активности в плазме крови факторов ее свертывания выделяют клинические формы гемофилии А, В, С:

* ***крайне тяжелая форма*** – активность фактора VIII (IX и XI) от 0 до 1 %;
* ***тяжелая форма*** – активность фактора VIII (IX и XI) от 1 до 2%;
* ***средней тяжести –*** активность фактора VIII (IX и XI) от 2 до 5%;
* ***легкая форма, или субгемофилия***, – активность фактора VIII (IX и XI) от 6 до 24%;
* ***минимальный гемостатический уровень*** – активности фактора VIII (IX) в крови для выполнения операций – 25%, для фактора XI – 5-15%;

Для оценки внутреннего пути активации свертывания крови используют общие коагуляционные тесты: время свертывания цельной крови (см. выше), парциальное (частичное) тромбопластиновое время, аутокоагуляционный тест.

***Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)*** – время рекальцификании бедной тромбоцитами плазмы крови в стандартных условиях, создаваемых внесением коалина — активатора XII фактора, и кефалина —аналога 3 тромбоцитарного фактора, для исключения влияния тромбоцитов на результат исследования (метод Рrосtoг с соавт.).

***В норме активированное частичное тромбопластиновое время составляет 25-35 с.***

***Причины, приводящие к удлинению АЧТВ:***

* нарушение показателей АЧТВ при нормальном протромбиновом и тромбиновом времени наблюдается только при дефиците или ингибиции факторов VIII, IX, XI, XII, а также прекалликреина и высокомолекулярного кининогена. Из этих форм патологии наиболее часто встречаются и сопровождаются выраженной кровоточивостью дефицит и/или ингибиция факторов VIII и IX, что характерно для гемофилии А и В, а также дефицит фактора Виллебранда. Более редко в крови ранее здоровых лиц появляются иммунные ингибиторы фактора VIII;
* замедление свертывания как в АЧТВ, так и протромбиновом тесте при нормальном тромбиновом времени и уровне фибриногена наблюдается при дефиците факторов X, V, И, а также при воздействии непрямых антикоагулянтов;
* удлинение протромбинового времени при нормальных показателях АЧТВ и тромбинового времени характерно только для дефицита фактора VII;
* удлинение АЧТВ, протромбинового и тромбинового времени наблюдается при глубокой гипофибриногенемии, лечении активаторами фибринолиза. Удлинение времени свертывания только в тромбиновом тесте характерно для дисфибриногенемии и нарушений полимеризации фибрин-мономеров;
* афибриногенемия и гипофибриногенемия, как врожденные, так и связанные с тяжелыми поражениями печени, сопровождаются удлинением АЧТВ;
* при проведении гепаринотерапии удлиняются АЧТВ, протромбиновое и тромбиновое время. Важное значение придается определению АЧТВ при лечении гепарином. Известно, что больные могут быть с повышенной и пониженной чувствительностью к гепарину. Окончательно вопрос толерантности к гепарину может быть уточнен путем повторного определения АЧТВ за 1 ч до очередного введения гепарина. Если АЧТВ в это время окажется удлиненным более чем в 2,5 раза по сравнению с нормой, констатируют повышенную чувствительность к гепарину, снижают дозу гепарина или увеличивают интервал между его введениями;
* удлинение АЧТВ может свидетельствовать о наличии у пациента волчаночного антикоагулянта при отсутствии нарушений других показателей коагулограммы;

***Аутокоагуляционный тест (АКТ)*** (по Беркарда с соавт.). Стандартизация фосфолипидной и контактной активации начальной фазы процесса свертывания осуществляется добавлением к рекальцифицированной плазме крови гемолизата эритроцитов исследуемого больного (аутотест).

По данным, полученным через 2—6—8—10—20—30—40—50—60 мин после добавления гемолизат-кальциевой смеси, строят график, восходящая часть которого отражает динамику нарастания активности тромбопластина и тромбина, нисходящая часть – скорость инактивации тромбина за счет антитромбинов и продуктов фибринолиза.

Чувствительность метода зависит от гематокритного показателя и содержания эритроцитов у больного.

Нарушение только внутреннего механизма активации свертывания крови (при нормальном тромбиновом и протромбиновом времени) предполагает (с учетом соответствующей клинической картины) дефицит факторов VIII или IX, болезнь Виллебранда, либо дефицит факторов XI и XII. Нарушение только протромбинового времени при нормальных показателях внутреннего механизма свертывания и нормальном тромбиновом времени предполагает дефицит фактора VII. Нарушение обоих механизмов активации свертывания (при нормальном тромбиновом времени) отмечается либо при наследственном дефиците факторов X, V, II, либо при нарушении их синтеза в печени (о чем будет говориться ниже).

Наряду с изучением коагуляционных механизмов проводят ***исследование антикоагуляционного звена системы свертывания крови*** и фибринолитической системы. Представление о фибринолитической активности крови дает ее определение эуглобулиновым методом.

***Метод Ковальского*** (осаждение в кислой среде и при низкой температуре эуглобулиновой фракции, содержащей факторы свертывания крови и фибринолиза, главным образом плазминоген): 0,1 мл оксалатной плазмы (1 : 9) помещают в центрифужную пробирку, добавляют 1,8 мл кислой воды (рН 5,2). пробирку ставят в холодильник при 4°С (при этом из плазмы выпадает эуглобулиновая фракция). Через 30 мин пробирку вынимают и центрифугируют в течение 10 мин при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость отсасывают, к осадку приливают 0,1 мл бората натрия и ставят в термостат при 37°С на несколько минут до полного растворения осадка. Приливают 0.1 мл раствора хлорида кальция (содержащийся в эуглобулиновой фракции фибриноген превращается в фибрин). Засекают время образования сгустка и вновь ставят пробирку в термостат до полного лизиса сгустка.

Время от момента образования сгустка до его растворения выражает ***фибринолитическую активность крови, которая в норме равна 3 – 4 ч.***

В последние годы применяют более информативные, чем эуглобулиновый, методы исследования фибринолиза, основанные на дополнительной стандартизованной активации его стрептокиназой, а также методы выявления в плазме крови продуктов фибринолиза – ПДФ (иммунологические и химические), определение содержания плазминогена в плазме,α – 2 – АП, содержание Д-димера в плазме.

***Плазминоген***

*Содержание плазминогена в плазме в норме составляет 80—120 %.*

Плазминоген (профибринолизин) – неактивный предшественник фермента плазмина (фибринолизина). Определение плазминогена является важнейшим для оценки состояния плазминовой (фибринолитической) системы.

Плазминовая система включает четыре основных компонента: плазминоген, плазмин, активаторы проферментов фибринолиза и его ингибиторы. Плазминоген превращается в плазмин под влиянием физиологических активаторов – веществ, активирующих фибринолиз. Они могут быть плазменного, тканевого и экзогенного (бактериального) происхождения. Тканевые активаторы образуются в ткани предстательной железы, легких, матки, плаценты, печени, сосудистой стенки. Активаторы плазминогена содержатся в секреторных жидкостях (к ним относится, в частности, урокиназа, вырабатывающаяся в почках). Экзогенный активатор плазминогена бактериального происхождения (стрептокиназа) активирует плазминоген, образуя с ним активный комплекс.

Плазминовая система в основном предназначена лизировать фибрин, хотя плазмин легко может разрушать фибриноген, факторы V, VIII и др. Мощная антиплазминовая система (альфа-1-антитрипсин, альфа-2-антиплазмин, альфа-2-макроглобулин, антитромбин III) защищает эти белки от действия плазмина, сосредоточивая его действие на фибрине.

***Нарушения плазминовой системы.*** Под влиянием различных патологических процессов изменяются состояние плазминовой системы и продукция ее отдельных компонентов. В результате активации плазминовой системы нарушается гемостаз и довольно часто развивается геморрагический фибринолитический синдром. Клинически он протекает остро, проявляясь тяжелыми кровотечениями вследствие множественных дефектов в системе гемостаза. Этот синдром может протекать латентно: кровоточивость отмечается у больных лишь в послеоперационном и послеродовом периодах при повреждении тканей. Чаще всего такие состояния определяются у больных с поражениями печени в результате уменьшения синтеза ею анти-плазминов, при поражении органов, богатых активаторами плазминогена, и при оперативных вмешательствах на этих органах (по поводу рака предстательной железы, легкого), реже – у людей с усиленной выработкой (медикаментозной, бактериальной, стрессовой и др.) активаторов плазминогена или повышенной их концентрацией. Такой фибринолиз, обусловленный первичной активацией плазминовой системы как таковой и не отражающий реакцию организма на повышение образования фибрина, является первичным фибринолизом.

В большинстве случаев встречается вторичный фибринолиз вследствие активации плазминовой системы на образование фибрина в организме. При вторичном фибринолизе плазминовая активность вначале повышается, а затем постепенно снижается и, наконец, полностью исчезает из-за исчерпания плазминогена. Нередко падает и уровень активаторов плазминогена на фоне сниженного или повышенного количества антиплазминов. На способности ряда препаратов превращать неактивный плазминоген в плазмин основано проведение тромболитической терапии у больных инфарктом миокарда и тромбоэмболиями путем введения активаторов плазминогена (чаще всего препаратов стрептокинзы). При проведении тромболитической терапии необходим постоянный контроль за уровнем плазминогена в крови.

Следует иметь в виду, что плазминоген, так же как и все другие белки острой фазы, повышается при инфекциях, травмах, опухолях и в последние месяцы беременности.

***Альфа-2-антиплазмин (альфа-2-АП)***

*Содержание альфа-2-АП в плазме в норме составляет 80—120 %.*

Альфа-2-АП – основной быстродействующий ингибитор плазмина. Он подавляет фибринолитическую и эстеразную активность практически мгновенно. Механизм его действия основан на том, что он мешает плазминогену адсорбироваться на фибрине, снижая, таким образом, количество образующегося плазмина на поверхности сгустка и тем самым резко замедляя фибринолиз. Для специфического связывания альфа-2-АП с фибриногеном необходимо присутствие фибринстабилизируюшего фактора (фактор XIII).

Альфа-2-АП характеризует состояние системы ингибиторов фибринолиза.

Определение альфа-2-АП используется в комплексной оценке состояния плазминовой системы. Оценивать содержание альфа-2-АП нужно творчески, так как оно зависит и от содержания плазминогена, и от количества фибриногена в крови, что всегда должно приниматься во внимание.

Снижение активности альфа-2-АП наблюдается при тяжелых гепатитах, циррозе печени, хронических тонзиллитах, ДВС-синдроме, тромболитической терапии стрептокиназой. У больных с хроническим течением ДВС-синдрома, у которых плазминоген активируется медленно, содержание альфа-2-АП резко падает, что связано с быстрым выведением комплекса альфа-2-АП – плазмин. У больных с низким содержанием альфа-2-АП и пониженной активностью фибринстабилизирующего фактора послеоперационный период может осложниться кровотечением.

Повышение альфа-2-АП может быть выявлено у больных сахарным диабетом, у лиц, перенесших стрептококковую инфекцию, со злокачественными новообразованиями, острыми тромбозами, после оперативных вмешательств.

***Продукты деградации фибриногена/фибрина (ПДФ)***

*Содержание ПДФ в плазме в норме меньше 10 мг/л.*

ПДФ образуются в организме при активации системы фибринолиза (взаимодействия плазмина с фибриногеном и фибрином), которая развивается в ответ на внутрисосудистое фибринообразование. ПДФ обладают антитромбопластиновым, антитромбиновым и антиполимеразным действием. Активный плазмин вызывает последовательное асимметричное расщепление фибриногена/фибрина. Вначале от их альфа- и бета-цепей отщепляются низкомолекулярные фрагменты. После их отщепления в плазме остается крупномолекулярный фрагмент X, который еще сохраняет способность образовывать фибрин (свертываться) под влиянием тромбина. Затем под действием плазмина фрагмент X расщепляется на фрагменты Y и D, а фрагмент Y — на фрагменты D и Е. Крупномолекулярные фрагменты фибринолиза (фрагменты X и Y) получили название «ранние», а фрагменты D и Е – «поздние», или конечные. Эти фрагменты расщепления фибриногена и фибрина называются ПДФ. У здорового человека концентрация ПДФ чрезвычайно низка. Обнаружение повышенного содержания ПДФ – ранний диагностический признак ДВС-синдрома. Определение ПДФ в плазме крови может быть диагностическим показателем закупорки сосудов, которую трудно определить клинически. Увеличение их количества бывает при легочной тромбоэмболии, инфаркте миокарда, тромбозах глубоких вен, в послеоперационном периоде, при осложнениях беременности (отслойка плаценты, эклампсия), у больных с различными злокачественными новообразованиями, лейкозами, при острой и хронической почечной недостаточности, обширных травмах, ожогах, шоке, инфекционных заболеваниях, септицемии, коллагенозах, парапротеинемиях и др. Постоянное обнаружение ПДФ имеет большое значение в диагностике хронической формы ДВС-синдрома.

***D-димер***

*Содержание D-димера в плазме в норме меньше 0,5 мкг/мл.*

При расщеплении волокон фибрина образуются фрагменты – D-димеры. При определении с помощью специфических антисывороток содержания D-димеров можно узнать, в какой степени в исследуемой крови выражен фибринолиз, но не фиброгенолиз. Повышенное содержание фрагмента фибриногена D-димера является одним из главных маркеров активации системы гемостаза, поскольку отражает как образование фибрина в исследуемой крови, так и его лизис.

Выявление в плазме крови D-димера свидетельствует об активации в ней фибринолиза. Определение в плазме D-димера используется для исключения тромбоза и диагностики ДВС-синдрома. Повышенные значения D-димера в плазме могут быть при инфаркте миокарда, злокачественных опухолях, заболеваниях печени, активном воспалительном процессе.

Из ***физиологических антикоагулянтов*** имеет значение определение уровня в крови антитромбина III, гепарина в плазме, АВС, протеина в плазме – для выявления наследственной недостаточности (семейные случаи рецидивирующих тромбоэмболий), при ДВС-синдроме (см. ниже), в оценке ожидаемого эффекта от гепаринотерапии, поскольку антикоагулируюшее действие гепарина реализуется через антитромбин III.

***Антитромбин III (AT III)***

*Содержание AT III в плазме в норме – 80-120 %.*

AT III — гликопротеид, наиболее важный естественный ингибитор свертывания крови; ингибирует тромбин и ряд активированных факторов свертывания (Ха, ХIIа, IXa). Дефицит AT III может быть первичным (наследственным) и вторичным, связанным с определенным заболеванием или состоянием. Снижение уровня AT III, являющееся фактором тромбогенного риска (снижение уровня AT III до 50-80 % ведет к значительному увеличению числа послеоперационных тромбозов), отмечается при ряде состояний и заболеваний:

* при атеросклерозе, в старческом возрасте;
* в середине менструального цикла, в последние месяцы беременности;
* в послеоперационном периоде;
* при заболеваниях печени (хронические гепатиты, циррозы печени) уровень AT III снижается пропорционально тяжести заболевания;
* при введении гепарина AT III снижается, так как соединяется с ним. Низкое содержание AT ІІI ведет к неэффективности терапии гепарином. Наклонность к рецидивирующим тромбозам, особенно плохо поддающимся терапии гепарином, должна наводить на мысль о снижении AT III. При терапии гепарином желательно проводить контроль над уровнем содержания AT III;
* при приеме пероральных контрацептивов и эстрогенов;
* наиболее частая причина снижения уровня AT III — шоковые состояния, при которых резко падает продукция AT III печенью, и активируются его ингибиторы в крови.

Повышение уровня AT III расценивается как фактор геморрагического риска и отмечается в следующих случаях:

* при вирусном гепатите, холестазе, тяжелом остром панкреатите, раке поджелудочной железы;
* при дефиците витамина К;
* при приеме антикоагулянтов непрямого действия;
* во время менструации.

***Гепарин в плазме***

*Активность гепарина в плазме в норме – 0,24-0,6 кЕД/л.*

Гепарин является сульфатированным полисахаридом, синтезируется в тучных клетках, не проникает через плаценту. В большом количестве содержится в печени и легких. Превращает AT III в антикоагулянт немедленного действия. С фибриногеном, плазмином и адреналином образует комплексы, обладающие противосвертывающим и фибринолитическим действием. В малых концентрациях ингибирует реакцию между факторами IХа, VIII, аутокаталитическую активацию тромбина и действие фактора Ха. В высоких концентрациях ингибирует коагуляцию во всех фазах, в том числе и тромбин-фибриногеновую. Тормозит некоторые функции тромбоцитов. Экзогенный гепарин инактивируется главным образом в печени, но 20 % его выделяется с мочой. Гепарин оказывает свое действие только при наличии полноценного AT III в крови.

1. Определение гепарина необходимо как для мониторинга гепаринотерапии, так и для выявления резистентности больных к гепарину.

Повышение количества гепарина наблюдается при диффузных болезнях соединительной ткани, лейкозах, лучевой болезни, при анафилактическом и посттрансфузионном шоке.

***Активированное время свертывания крови (ABC)***

*ABC в норме – 80-120 с.*

Метод определения активированного времени свертывания крови (ABC) позволяет контролировать и регулировать уровень гепаринизации больного во время работы искусственных органов (аппарат искусственного кровообращения, искусственная почка, печень, гемосорбция), рассчитывать нейтрализующую дозу протамина сульфата и оценивать полноту нейтрализации гепарина. Большим достоинством метода является возможность выявлять больных с той или иной степенью резистентности к гепарину, когда для достижения оптимальной степени гепаринизации приходится вводить больному гепарин в дозе до 13 мг/кг, в то время как обычно применяется 2—4 мг/кг.

***Протеин С в плазме***

Содержание протеина С в плазме в норме — 70-130%.

Протеин С – витамин-К-зависимый гликопротеид плазмы. Синтезируется печенью в виде неактивного профермента, который под влиянием комплекса тромбин – тромбомодулин превращается в активную форму. Активированный протеин С – антикоагулянтный энзим, который селективно инактивирует факторы Va и VІІІa путем их гидролиза в присутствии ионизированного кальция, фосфолипидов и его кофактора – протеина S, тем самым препятствуя переходу протромбина в тромбин.

Определение протеина С – дополнительный тест для оценки состояния антикоагулянтной системы у больного. Специфичностью теста является то, что дефицит протеина С связан с высоким риском развития тромбоза, особенно венозного тромбоза и тромбоэмболии легочной артерии у молодых людей.

Дефицит протеина С – частая причина тромбоэмболических заболеваний у пожилых людей, поэтому определение его показано у больных в возрасте старше 50 лет, страдающих тромбозами, у которых его недостаточность составляет 25-40%. Недостаточность протеина С может быть двух типов: количественная (тип І) — низкая концентрация протеина и качественная (тип II) — протеин имеется, но он неактивен или малоактивен. При врожденной недостаточности протеина С – гетерозиготной – его активность составляет 30-60 %, при гомозиготной – 25% и ниже. Дальнейшие исследования показали, что резистентность к протеину С (неактивный протеин С) объясняется генетически обусловленным дефектом фактора V (и фактора VIII в других случаях) свертывающей системы крови.

Протеин С не является белком острой фазы. Снижение протеина С отмечается при заболеваниях печени, витамин-К-авитаминозе, ДВС-синдроме. При нефротическом синдроме протеин С может теряться с мочой. Непрямые антикоагулянты, контрацептивы снижают концентрацию протеина С.

**3.2. Исследование микроциркуляторно-тромбоцитарного гемостаза**

Наиболее общими тестами, отражающими состояние сосудистотромбоцитарного гемостаза, являются определение длительности кровотечения по Дуке и ретракция кровяного сгустка.

*Уколочная проба Дуке*. При уколе кончика пальца или мочки уха иглой на глубину 3—4 мм выступающую самостоятельно из ранки кровь снимают фильтровальной бумагой каждые 30 с. ***Продолжительность кровотечения в норме не превышает 4 мин,*** при тромбоцитопениях удлиняется до 20 – 30 мин и больше.

*Определение ретракции кровяного сгустка* (метод Макферлейна). В градуированную центрифужную пробирку помещают 5 мл венозной крови. В нее погружают стеклянную палочку с шероховатой поверхностью, укрепленную вертикально при помощи пробки, закрывающей пробирку. Пробирку устанавливают в водяную баню при 37°С. Через час, после свертывания, стеклянную палочку удаляют вместе со сгустком. Определяют объем оставшейся сыворотки и выражают его в процентах. ***У здорового человека ретракция кровяного сгустка составляет 44-46%, индекс ретракции*** (отношение объема отделившейся сыворотки к общему объему крови) – 0,3-0,5. Ретракция кровяного сгустка недостаточна или отсутствует при тромбоцитопениях и тромбоцитопатиях.

Из проб на резистентность капилляров при тромбоцитопениях и тромбоцитопатиях пользуются чаще ***«симптомом щипка»*** (на месте щипка через несколько минут появляется кровоизлияние, которое увеличивается неадекватно нанесенной травме капилляров) или «симптомом жгута» (симптом считается положительным, если при наложении на плечо жгута или манжетки тонометра на 3 мин при давлении 50 мм рт. ст. возникают петехии в количестве не менее одной на 1 см2).

В последние годы при диагностике тромбоцитопатий (качественных изменений тромбоцитов) стали применять методы, позволяющие изучить адгезию, агрегацию, реакцию освобождения тромбоцитов.

Из способов изучения адгезии тромбоцитов наиболее информативными являются закрытые методы, при которых кровь прямо из вены пропускается через колонку со стеклянными бусами (диаметр 0,5 мм) с соблюдением времени контакта. По разнице количества тромбоцитов в крови до и после прохождения через колонку судят о количестве тромбоцитов, подвергшихся адгезии к стеклу.

Агрегацию тромбоцитов исследуют в обогащенной тромбоцитами плазме крови с помощью ФЭКа или специальных фотометров (агрегометров), либо микроскопически – путем подсчета тромбоцитарных агрегатов и свободно лежащих тромбоцитов.

Агрегационную функцию тромбоцитов определяют при воздействии различных физиологических агрегирующих агентов: оптимальных и малых доз АДФ, коллагена (в эмульсии), адреналина, малых доз тромбина. При использовании малых доз АДФ и адреналина выявляется вторая волна агрегации, обусловленная «реакцией освобождения» из тромбоцитов собственных агрегирующих агентов (АДФ, адреналина, тромбоксана и др.). Отсутствие второй волны агрегации – важный признак некоторых тромбоцитопатий. Дополнительное представление о реакции освобождения дает изучение тромбоцитарных факторов – 4 пластиночного фактора, серотонина и др. в плазме крови. Исследование тромбоцитарных компонентов после разрушения тромбоцитов (ультразвуком или повторными замораживанием и оттаиванием) способствует разграничению нарушений реакции освобождения от недостаточности пула накопления в клетках этих компонентов. Исследование агрегации тромбоцитов под влиянием ряда нефизиологических агентов, например ристоцетина и бычьего фибриногена, используют в основном при диагностике болезни Виллебранда и синдрома Бернара – Сулье.

***Агрегация тромбоцитов с АДФ в плазме***

Процессы агрегации изучают с помощью агрегометра, отражающего ход агрегации графически в виде кривой; в качестве стимулятора агрегации служит АДФ.

До добавления проагреганта (АДФ) возможны случайные осцилляции кривой оптической плотности. После добавления агреганта на кривой появляются осцилляции за счет изменения формы тромбоцитов. Осцилляции уменьшаются по амплитуде, уменьшается и оптическая плотность. Тромбоциты соединяются в агрегаты, и кривая идет вверх (первичная волна). Когда подъем переходит в «плато», происходит реакция высвобождения, и кривая еще больше поднимается вверх (вторичная волна).

При воздействии малых доз АДФ на агрегатограмме регистрируется двойная волна агрегации. Первая фаза (первичная волна) зависит от добавленного экзогенного АДФ, вторая фаза (вторичная волна агрегации) – за счет реакции высвобождения собственных агонистов, содержащихся в гранулах тромбоцитов. Вводимые извне большие дозы АДФ, обычно 1·10–5М (1мкМ – 1·10–6М), приводят к слиянию первой и второй волн агрегации. Для достижения двухволновой агрегации обычно используется АДФ в концентрации 1·10–7М.

При анализе агрегатограмм обращают внимание на общий характер агрегации (одновол-новая, двухволновая; полная, неполная; обратимая, необратимая), разницу между оптической плотностью плазмы до начала агрегации и после достижения максимальной агрегации (характеризует интенсивность агрегации), а также уменьшение оптической плотности плазмы за первую минуту агрегации или угол наклона кривой на этапе бурной агрегации (характеризует скорость агрегации). Важно отметить, что появление двухволновой агрегации при стимуляции АДФ и адреналином в концентрациях, вызывающих в норме обратимую агрегацию (обычно 1-5 мкМ), указывает на повышение чувствительности тромбоцитов к этим индукторам, а развитие одноволновой неполной (а часто и обратимой) агрегации при стимуляции ими в концентрациях 10 мкМ и больше — на нарушение реакции высвобождения тромбоцитов. В клинических исследованиях общепринятым считается использование АДФ в концентрациях 1·10–5М (для достижения одноволновой агрегации) и 1·10–7М (для достижения двухволновой агрегации).

Результаты исследования агрегационной способности тромбоцитов могут выражаться в процентах (табл. 24).

Определение агрегации тромбоцитов с различными индукторами агрегации играет важнейшую роль в дифференциальной диагностике тромбоцитопатий (табл. 25).

**Таблица 24.** Агрегация по Вайсу для АДФ в норме

|  |  |
| --- | --- |
| Концентрация АДФ, мкМ | Агрегация в норме, % |
| 10521 | 77,766,147,530,7 |

**Таблица 25.** Нарушения агрегации тромбоцитов при различных заболеваниях

|  |  |
| --- | --- |
| Видтромбоцитопатий | Стимулятор агрегации и нарушения агрегации |
| АДФ | коллаген | адреналин | ристоцетин |
| первичная волна | вторичная волна |
| ТромбастенияАспириноподобный дефектСиндром Бернара-СульеСиндром Вискотта-ОлдричаБолезнь Виллебранда | ПатологияНорма»ПатологияНорма | Патология»НормаПатологияНорма | Патология»(+,-)ПатологияНорма | Патология(+,-)(+,-)ПатологияНорма | Норма»»»Сниженная (патология) |

Примечание; (+,-) – диагностического значения не имеет

В зависимости от функционально-морфологических характеристик тромбоцитов тромбоцитопатии делят на следующие группы.

* Наследственные дизагрегационные тромбоцитопатии без нарушения реакции высвобождения (вторичная волна). В эту группу входят:
	+ - - тромбастения Гланцманна, для которой характерно падение АДФ-зависимой агрегации, при нормальной ристоцетинагрегации;
* Парциальные дизагрегационные тромбоцитопатии. В эту группу входят заболевания с врожденным дефектом агрегации с тем или иным агрегантом или упадком реакции высвобождения;
* Нарушение реакции высвобождения. Для этой группы заболеваний характерно отсутствие второй волны агрегации при стимуляции малым количеством АДФ и адреналина. В тяжелых случаях отсутствуют АДФ и адреналинагрегация;
* Болезни и синдромы с недостаточным пулом накопления и хранения медиаторов агрегации. К этой группе относятся заболевания, характеризующиеся неспособностью тромбоцитов накапливать и выделять серотонин, адреналин, АДФ и другие факторы кровяных пластинок. Лабораторно для этой группы характерны снижение всех видов агрегации и отсутствие второй волны агрегации.

При приобретенных тромбоцитопатиях отмечают снижение агрегации в ответ на введение АДФ при пернициозной анемии, остром и хроническом лейкозе, миеломной болезни. У больных уремией при стимуляции коллагеном, адреналином АДФ-агрегация снижена. Для гипотиреоза характерно снижение агрегации при стимуляции АДФ. Ацетилсалициловая кислота, пенициллин, индометацин, делагил, диуретики (в частности фуросемид при применении в высоких дозах) способствуют снижению агрегации тромбоцитов, что нужно учитывать при лечении этими препаратами.

При хирургических операциях, осложненных кровотечениями, нарушения в системе сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в большинстве случаев обусловлены не нарушением агрегационных и других функциональных свойств тромбоцитов, а наличием тромбоцитопении той или иной степени.

***Агрегация тромбоцитов с коллагеном в плазме***

Коллагениндуцированная агрегация тромбоцитов имеет достаточно выраженную латентную фазу, во время которой происходит активация фосфолипазы С. В зависимости от используемого реагента продолжительность этой фазы может составить 5-7 мин.

В лабораторно-клинической практике коллаген (например, фирмы «Stago», Франция) чаще всего используют в конечной концентрации 50 мкг/мл. Однако коллагены других фирм могут обладать иной активностью, что необходимо учитывать при их применении. Результаты исследования агрегационной способности тромбоцитов могут выражаться в процентах (табл. 26.).

**Таблица 26.** Агрегация тромбоцитов по Вайсу для коллагена в норме

|  |  |
| --- | --- |
| Концентрация коллагена, мкг/мл | Агрегация в норме, % |
| 10521 | 93,175,069,446,4 |

***Агрегация тромбоцитов с адреналином в плазме***

Кривая, регистрируемая при записи адреналининдуцированной агрегации, имеет две волны. Адреналин при контакте с тромбоцитами взаимодействует с α2а-адренорецепторами, что вызывает ингибирование аденилатциклазы. Вторичная агрегация при индукции процесса адреналином является итогом развития реакции высвобождения и продукции тромбоксана А2.

Результаты исследования агрегационной способности тромбоцитов могут выражаться в процентах (табл. 27).

**Таблица 27.** Агрегация тромбоцитов по Вайсу для адреналина в норме

|  |  |
| --- | --- |
| Концентрация адреналина, мкМ | Агрегация в норме, % |
| 3001506030 | 92,546,042,535,0 |

Отдельно исследование не назначается, а проводится в комплексе с определением агрегации тромбоцитов с АДФ и коллагеном.

***Агрегация тромбоцитов с арахидоновой кислотой в плазме***

Арахидоновая кислота является природным агонистом, причем ее действие опосредовано эффектами простагландинов G2 и Н2 и тромбоксана А2 и включает активацию как фосфо-липазы С с последующим образованием вторичных посредников, мобилизацией внутриклеточного кальция и расширением процесса активации клеток, так и фосфолипазы А2, что непосредственно приводит к либерации эндогенной арахидоновой кислоты.

Активация тромбоцитов под действием арахидоновой кислоты происходит достаточно быстро, поэтому кривая, характеризующая этот процесс, чаще носит одноволновый характер.

Для индукции агрегации тромбоцитов арахидоновая кислота используется в концентрациях 1·10–3 – 1·10–4 М. При работе с арахидоновой кислотой следует учитывать, что на воздухе это вещество очень быстро окисляется.

Рекомендуется выполнение агрегации с арахидоновой кислотой в случаях использования лекарств, влияющих на реакцию агрегации (например, ацетилсалициловая кислота, пенициллин, индометацин, делагил, диуретики), что нужно учитывать при оценке результатов исследований.

***Агрегация тромбоцитов с ристоцетином в плазме***

*Активность фактора Виллебранда в норме – 58-166 %.*

Фактор VIII свертывания плазмы – антигемофильный глобулин А – циркулирует в крови в виде комплекса из трех субъединиц, обозначаемых VIII-к (коагулирующая единица), VIII-АГ (основной антигенный маркер) и VIII-ФВ (фактор Виллебранда, связанный с VIII-АГ). Считают, что VIII-ФВ регулирует синтез коагуляционной части антигемофильного глобулина (VIII-к) и участвует в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе.

При болезни Виллебранда снижается активность как VIII-ФВ, участвующего в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе и являющегося основным маркером комплекса фактора VIII (фактор Виллебранда), так и VIII-к. При этом заболевании нарушается ристоцетинагрегация тромбоцитов.

Определение агрегации тромбоцитов с ристоцетином в плазме применяется для количественной оценки фактора Виллебранда. При болезни Виллебранда отмечается нарушение ристоцетинагрегации при нормальном ответе на воздействие АДФ, коллагена и адреналина. Нарушение ристоцетинагрегации выявляется и при макроцитарной тромбодистрофии Бернара-Сулье (см. далее).

Исследование может использоваться в дифференциальной диагностике между врожденной гемофилией А (недостаток фактора VIII) и болезнью Виллебранда. При гемофилии резко снижено содержание VIII-к, а содержание VIII-ФВ находится в пределах нормы. Эта разница приводит к различию клинических форм геморрагического диатеза: гематомная форма возникает при гемофилии, а петехиально-гематомная – при болезни Виллебранда.

Кроме этих методов, применяют электронно-микроскопические (изучение ультраструктуры тромбоцитов), радиоизотопные (определение продолжительности жизни тромбоцитов), гистологические (исследование мегакариоцитов в срезах костного мозга), иммунологические (определение антитромбоцитарных антител) методы исследования.

**ЛЕКЦИЯ № 8**

**ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ КОСТНОГО МОЗГА. КОСТНО-МОЗГОВЫЕ ИНДЕКСЫ И ИХ ОЦЕНКА. НОРМАЛЬНЫЕ ЛИМФОАДЕНОГРАММЫ И СПЛЕНОГРАММЫ**

**План**

1. Гемопоэз во взрослом организме.

1.1. Морфофункциональные особенности костного мозга и его роль в гемопоэзе

1.2. Структура, функции и роль селезенки в гемопоэзе.

1.3. Структура, функции лимфоузлов, их роль в гемопоэзе.

1.4. Морфофункциональные особенности тимуса и его роль в гемопоэзе.

2. Нормальная миелограмма. Сущность понятия, приготовление и окраска мазков, значение исследования.

2.1. Значение изменений миелограммы.

3. Нормальные лимфоаденограмма и спленограмма. Сущность, нормальные показатели.

**1. Гемопоэз во взрослом организме**

С момента рождения развитие первичных полипотентных стволовых клеток, как уже говорилось рание, миелопоэз происходят в костном мозге, в то время как лимфопоэз – в тимусе, селезенке и лимфатических узлах. При патологии миелопоэз может возобновляться в селезенке, а также в печени, повторяя стадию развития плода. Главным местом гемопоэза постепенно, на смену печени и селезенке, становятся костномозговые полости почти всех костей осевого и добавочного скелета. Вследствие активации гемопоэза костный мозг приобретает красный цвет, аналогичный цвету крови, что отражает усиленную продукцию эритроцитов, содержащих гемоглобин. Костно-мозговая полость служит местом продукции нелимфоидных клеток крови, в то время как лимфопоэз у взрослого происходит преимущественно в селезенке, лимфатических узлах, тимусе и лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, включая миндалины, аденоиды и пейеровы бляшки.

Исследования с использованием световой микроскопии показали, что костный мозг взрослого человека составляют эритроидные и миелоидные клетки-предшественники вместе с рассеянными мегакариоцитами. Имеется также популяция клеток, известных как "стромальные клетки", которые определяют созревание клеток-предшественников и высвобождение полностью дифференцированных клеток в кровоток.

**1.1. Морфофункциональные особенности**

**костного мозга и его роль в гемопоэзе**

В костном мозге существуют области так называемого гемопоэтического индуктивного микроокружения, которые обеспечивают продукцию эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

Их формируют стромальные клетки (ретикулярные и барьерные), а также внутрикостные и лимфоидные клетки, остеобласты, остеокласты, макрофаги и их растворимые ростовые факторы (цитокины). Они создают и поддерживают "почву" для прорастания "семян" гемопоэтических стволовых клеток и их потомства. Таким образом, имеется много уязвимых точек для нарушения гемопоэза.

Сосудистые компартменты костного мозга содержат сосудистые синусы, которые представляют собой широкие тонкостенные вены. Сосудистые синусы — доминирующая структура этих компартментов. Клетки крови из гемопоэтических компартментов входят в синусы, перемещаются от периферии к центральным венам и, в конечном счете попадают в общий кровоток. Артерии постепенно превращаются в капилляры, которые затем переходят непосредственно в венозные синусы. В отличие от селезенки циркуляция в данном случае является „замкнутой”.

Эндотелий сосудистого синуса прилежит к окончатой базальной мембране, под которой находятся адвентициальные клетки. Это крупные отростчатые стромальные ретикулярные клетки, которые обеспечивают поддержание гемопоэтического компартмента. Они покрывают и раскрывают эндотелиальные клетки сосудов; что помогает регулировать проход клеток из\_гемопоэтического компартмента к сосудистому. Эти клетки могут превращаться в адипоциты (или накапливать желатиновый материал) и таким образом контролировать объем гемопоэтического компартмента.

Гемопоэтические компартменты, в которых группируются клетки, находящиеся на разных стадиях развития всех трех ростков кроветворения, окружены венозными пространствами. Здесь же находятся артериальные сосуды и добавочные клетки. Отношение миелоидных клеток к эритроидным равно приблизительно 3:1. Развитие эритроцитов происходит в эритробластных островках, которые состоят из центральных макрофагов, окруженных дифференцирующимися и пролиферирующими эритробластами. Такой островок лежит непосредственно напротив сосудистого синуса, составляющие его клетки располагаются в порядке, определяемом их зрелостью: ретикулоциты и/или ортохроматофильные пронормобласты (наиболее дифференцированные эритроидные предшественники) прилегают непосредственно к эндотелиальным клеткам сосудистых синусов, тогда как ранние предшественники в большей степени удалены от синусов. Макрофаги расположены так, чтобы они могли физически взаимодействовать с эритроидными клеткам для обеспечения фагоцитоза ядер и ядерных остатков и поставки цитокинов развивающимся эритроцитам. Изоляции эритробластных островков способствуют также барьерные клетки. Через отверстия в эндотелии сосудистых синусов мегакариоциты высвобождают цитоплазматические фрагменты (тромбоциты). Кроме того, в созревании мегакариоцитов и продукции тромбоцитов важную роль могут играть легкие. Перед выходом в сосудистый синус гранулоциты достигают стадии превращения в метамиелоциты. Микроворсинки метамиелоцитов отделяют от базальной поверхности эндотелия адвентициальные клетки для проникновения последних в просвет сосудистого синуса. Как уже отмечалось, нарушение гемопоэза может быть обусловлено многими причинами, в том числе физическими, метаболическими, химическими, инфекционными, воспалительными или иммунологическими.

С возрастом мозговая ткань костей добавочного скелета теряет красноватый цвет и преобразуется в желтый мозг, что отражает постепенную замену гемопотической ткани жировой. Уже в молодом возрасте трубчатые кости не содержат красный костный мозг, поскольку он полностью замещается негемопоэтическим желтым костным мозгом. Красный костный мозг сохраняется в грудине, ребрах, позвонках и тазовых костях. Хотя стимул для преобразования красного костного мозга в желтый неизвестен, в патологических условиях, связанных с усилением гемопоэза, может происходить нарушение этого процесса, и красный костный мозг обнаруживается в костях, которые обычно не связаны с гемопоэтической активностью, например в двойных пазухах костей черепа. В таких случаях местами локализации экстрамедуллярного (внекостномозгового) гемопоэза также могут быть печень, селезенка и лимфатические узлы. Максимальное распространение костномозгового кроветворения на все черепные и длинные кости можно наблюдать у лиц с тяжелой талассемией — болезнью, при которой эритропоэз протекает необычайно интенсивно в течение всей жизни, что и является сутью данного заболевания. При талассемии рентгенограмма черепа в области черепных пазух имеет характерный вид "hаiг-оn-еnd" ("волосатый череп"). Гиперплазия костного мозга в костях верхней челюсти приводит к типичному изменению лица: скулы выдаются и нарушается прикус зубов из-за того, что верхняя челюсть становится диспропорционально больше, чем нижняя.

**1.2. Структура, функции и роль селезенки в гемопоэзе**

Селезенка размещена в левом верхнем квадранте живота. Она связана с некоторыми другими органами и имеет почечную, панкреатическую и диафрагмальную поверхности. У взрослого человека она весит приблизительно 150 г вместе с небольшими придатками, величиной от горошины до сливы, которые находятся в желудочно-селезеночной связке, большом сальнике, а также в некоторых других местах. Хотя в древности рассматриваемый орган представлялся таинственным, теперь его функция определена. Структура селезенки и характер кровотока обеспечивают уникальную основу для выполнения многих установленных на сегодняшний день задач. Капсула, состоящая из плотной соединительной ткани, прорастает, формируя сеть перегородок в ткани селезенки. В отличие от животных, у человека в капсуле органа есть только небольшая мышца, способная расширять и сокращать селезёнку. Паренхима называется селезеночной пульпой, в которой выделяют красную пульпу, состоящую в значительной степени из селезеночных синусов, и тонкие пластинки ткани — селезеночные тяжи, находящиеся между синусами.

Кластеры лимфоцитов селезенки бывают двух типов. Одни состоят преимущественно из Т-лимфоцитов (тимусного происхождения) и вспомогательных клеток и формируют цилиндрическую оболочку, окружающую центральную артерию. Это так называемая периартериальная лимфатическая оболочка (ПАЛО). В-лимфоциты (как уже говорилось, термин "В-клетка" образован от burса Fabricius – органа расположенного в клоаке птиц и необходимого для процессинга и созревания В-клеток; костный мозг человека считают аналогом этого органа) внутри ПАЛО формируют узелки. ПАЛО центральной артерии постепенно суживается, переходя в белую пульпу вместе с капиллярами, соединяющимися непосредственно с венозными синусами. Кровь может изливаться прямо в красную пульпу, куда клетки свободно просачиваются и попадают в конечном счете в венозный синус.

Краевая (маргинальная) зона селезеночной пульпы представляет собой переходную область между красной и белой пульпой. Здесь начинается процесс фильтрации и сортировки клеток.

Кровоток в селезенке обеспечивает ее функционирование. Кровь поступает в орган по селезеночной артерии, проходящей через ворота. Селезеночная артерия разветвляется на трабекулярные артерии, которые в свою очередь делятся на центральные артерии, расположенные в центре цилиндрических ПАЛО. Как отмечалось ранее, центральные артерии прямо или косвенно переходят в венозные синусы. После попадания в селезеночные синусы кровь течет по пульпарным венам, которые переходят в трабекулярные вены. Из ворот селезенки кровь выносится по селезеночной вене.

Ток лимфы в селезенке совпадает с направлением венозного потока и противоположен току артериальной крови, но лимфатическая система селезенки у человека не так сильно развита, как у животных. Барьерные клетки, описанные Вейсом как "сильно активизированные, быстро мобилизующиеся блуждающие фибробластные клетки", являются клетками стромы. Хотя функция барьерных клеток неизвестна, их центральное расположение предполагает полифункциональность, включая образование оболочки вокруг кровеносного сосуда, формирование барьеров между кровью и тканью, концентрацию регуляторных факторов, изоляцию иммунокомпетентной ткани после запуска иммунного ответа, отгораживание гемопоэтических колоний, концентрацию гемопоэтических факторов и защиту от паразитов. Подобные клетки представлены в других гемопоэтических и иммунных тканях, где они могут функционировать так же, как в селезенке.

Селезенка выполняет много ***важных функций***, часть из которых непосредственно определяется сложным движением потока крови. В отличие от лимфоузлов, реагирующих на местный антигенный стимул, получая лимфу, селезенка тестирует кровь, которая собирается со всего тела, и иммунологически взаимодействует с ней. Здесь же происходит и "просматривание" плазмы, поскольку ветви центральных артерий повернуты под прямым углом, что позволяет плазме просочиться прежде, чем кровь достигает красной пульпы. Различные фильтрационные прослойки состоят из ретикулярных клеток и ретикулярных волокон, а также других типов клеток стромального происхождения, включая макрофаги, интердигитальные клетки и фолликулярные дендритные клетки. Барьерные клетки также помогают включать механизм фильтрации. Как уже отмечалось, периартериальные лимфатические оболочки, прослойки краевой зоны и красная пульпа служат фильтрами наряду с эндотелиальными клетками венозных синусов. Это позволяет селезенке распознавать, выбраковывать и удалять дефектные, старые и изношенные клетки. Включения частиц типа телец Жолли, телец Гейнца, бактерий, паразитов и гранул железа удаляются путем "складывания в селезеночную яму". Повторное использование железа, концентрирование тромбоцитов, удаление эритроцитов, регуляция объема крови, эмбриональный (и иногда патологический у взрослых) гемопоэз, иммунные функции — все это элементы комплексной функции селезенки.

На ранних стадиях воспалительного ответа селезенка функционирует и как первичный бактериальный фильтр или губка. При эпизодах массивной бактериемии селезенка улавливает бактерии и переваривает их в макрофагах. Эндотелиальные клетки венозных синусов (ЭКВС) формируют специализированную ткань, с которой сталкиваются клетки крови и которую они должны успешно пересечь, покидая губчатую петлю красной пульпы и продвигаясь к селезеночной вене. ЭКВС имеют уникальные антигенные характеристики и способность двигаться, что позволяет им тестировать аномальные, старые клетки или клетки, содержащие бактерии (например, полиморфно-ядерные лейкоциты), паразитов или простейших, по мере перемещения клеток между пальцеобразными межэндотелиальными расщелинами. Этот физический барьер и сетеобразная базальная мембрана — плацдарм для межклеточных взаимодействий, на котором макрофаги взаимодействуют с задержанными клетками и "ищут" на поверхности и внутри их дефекты и частицы, которые подвергнутся фагоцитозу.

Макрофаги не только поглощают бактерии, но и представляют их обработанные антигены непосредственно лимфоцитам в селезенке, стимулируя продукцию специфических антител. Собственно фагоцитоз макрофагов значительно уменьшает бактериальную нагрузку в кровотоке. Эта функция чрезвычайно важна, поскольку несколько полисахаридов на поверхности и грамотрицательных, и грамположительных бактерий являются мощными системными токсинами. Если их не изолировать в макрофагах, эти бактериальные антигены до развития гуморального иммунного ответа могут запускать альтернативный путь активации комплемента, что приводит к вазодилатации, увеличению проницаемости капилляров и в конечном счете к шоку и смерти.

Помимо выполнения функции очень сложного фильтра селезенка служит в качестве лимфатического "суперузла", в котором в присутствии Т-клеток образуется большое количество В-клеточных клонов (приблизительно 80 % клеток селезенки — В-клетки и около 15 % – Т-клетки). Кроме того, главным образом в селезенке происходит Т-независимое развитие В-клеток, имеющее важное значение для ответа организма на углеводные антигены, экспрессированные на капсулах бактерий Streptococcus pneumoniae, Hemophilus influenzae и Neisseriae meningitidis.

Т-клетки и В-клетки взаимодействуют в ПАЛО и лимфатических узелках внутри ПАЛО. Кластеры антителопродуцирующих клеток, состоящие из В-клеток, плазматических клеток, хелперных и супрессорных Т-клеток, макрофагов и других вспомогательных клеток, формируют в центре лимфатических узелков герминативные центры (центры размножения).

Наконец, селезенка выполняет две родственные неиммунные механические функции. Она служит резервуаром для тромбоцитов, наработанных в костном мозге. Обычно в селезенке сохраняется только небольшая часть всех тромбоцитов организма. Однако при увеличении размера селезенки в ней может находиться до 90 % всех тромбоцитов. Селезеночные тромбоциты, как представляется, находятся в состоянии равновесия с пулом циркулирующих тромбоцитов, которые медленно меняют свою локализацию.

Селезенка задерживает также эритроциты, но этот процесс менее пассивен и более динамичен. Стареющие, покрытые антителами или поврежденные эритроциты фильтруются в селезенке, где они либо удаляются, либо частично восстанавливаются, или "ремоделируются", ЭКВС и селезеночными макрофагами.

Ремоделированные эритроциты могут затем повторно рециркулировать, тогда, как аномальные клетки распознаются селезенкой и быстро удаляются для последующей переработки. При гипофункции селезенки или ее отсутствии специальными методами микроскопии обнаруживаются эритроциты с ямками, щербинками и кратерами. Обычная световая микроскопия позволяет в этих случаях рассмотреть на мазках крови, окрашенных по Райту, ядерные остатки, называемые, тельцами Жолли. Следует подчеркнуть, что у пациентов с дисфункцией или отсутствием селезенки в течение всей жизни существует риск развития бактериального сепсиса, особенно вызываемого инкапсулированными бактериями. Кроме того, у них тяжелее протекают паразитарные инфекции, такие как малярия.

Селезенка увеличивается по ряду причин. Одна из них — функциональная гиперактивность, называемая гиперспленизмом, часто сопровождается увеличением органа. Гиперспленизм может характеризоваться "прожорливостью" селезенки по отношению к собственным клеточным элементам организма, что приводит к цитопениям. Наблюдаются болевые ощущения из-за расширения или инфаркта селезенки, а при сдавлении желудка может развиваться преждевременное чувство насыщения. Существует несколько патофизиологических механизмов увеличения селезенки, в частности гиперплазия эндотелиальных или иммунных элементов вследствие инфекционных болезней или нарушений иммунитета. Расширение селезенки из-за нарушенного селезеночного кровотока происходит при циррозе печени, тромбозе селезеночной, печеночной или портальной вены. Первичные или метастатические опухоли, внекостномозговой гемопоэз или аномальный материал, инфильтрующий селезенку; например, при амилоидозе либо таких болезнях накопления, как болезнь Гоше, гемангиомы или кисты, также вызывают увеличение селезенки. Решение о хирургическом удалении гиперспленической, расширенной, болезненной или кровоточащей селезенки очень ответственно, так как после спленэктомии у пациента\_ослабляется иммунитет.

К причинам функционального и анатомического гипоспленизма относятся: врожденное отсутствие селезенки, спленэктомия, миелофиброз и другие миелопролиферативные нарушения, дефекты васкуляризации селезенки, иммунные или аутоиммунные болезни (волчанка или ревматоидный артрит), воспалительные заболевания кишечника, инвазивные опухоли, системный амилоидоз, нефротический синдром, мастоцитоз, а также состояние новорожденности.

Проявления гипоспленизма в периферической крови включают транзиторный тромбоцитоз и наличие телец Жолли (ядерные остатки в эритроцитах), а также ямок и расщелин на эритроцитах, образующихся из-за недостаточной переработки этих клеток в селезенке. При отсутствии селезенки появляются мишеневидные клетки и акантоциты. Как упоминалось ранее, затрудняется инактивация инкапсулированных бактерий. Нарушается ответ на антигенный стимул, в том числе вакцинацию некоторыми вакцинами. Кроме того, следствием асплении является повышенная восприимчивость к паразитарным болезням.

Роль селезенки поэтически описал Э. Джонс в своем стихотворении:

**Селезенка**

Железистый шар, спрятанный

за грохочущим дном желудка

под крепкой кривой

диафрагмой, толкаемой

ударами, передаваемыми

сердечным мотором. Она размещена

в шумном углу, по

преданию, в центре

страсти. Маленький эллиптический

мусорный мешок живота, который

поглощает старые клетки, использованную кровь;

возможно, он же — источник

меланхолии, сожаления

о необходимости каннибализма,

вины за излишнюю злость

и постоянное кусание. Это искупается

тем, что маленькая наседка,

кудахча, высиживает

новые клетки, сохраняющие

природу своей матери,

истребляя чужеродные бактериальные частицы,

прибывающие в темную железу.

Фильтр между артерией и веной,

микроскопические канальцы или

лужицы крови, маленькие неогороженные моря

хранят тайны глубоко

в красной висцеральной пульпе.

Элис Джонс, М. D. Окленд, Калифорния'

**1.3. Структура, функции лимфоузлов, их роль в гемопоэзе**

Лимфатические узлы располагаются по ходу лимфатических сосудов и представляют собой маленькие овальные или почкообразные образования длиной 0,1-2,5 см. Они соединены с системой лимфоциркуляции афферентными лимфатическими сосудами, которые проникают в лимфатический узел в области большой кривизны, и эфферентными сосудами, которые выходят из ворот. Клапаны в лимфатических сосудах обеспечивают однонаправленный ток лимфы. В ворота входят артерии, а выходят из них вены. Каждый узел заключен в фиброзную капсулу, которая распространяется в паренхиму в виде перегородок (трабекул). Специализированные сети или фильтрационное ложе, составленное из ретикулярных клеток и волокон, получает Т- и В-лимфоциты из рециркулирующего лимфатического пула. Т-лимфоциты занимают периферийную область лимфатических узлов и концентрируются в межфолликулярной зоне (между зонами первичных и вторичных фолликулов), а также в паракортикальной области.

Т-клетки в лимфатических узлах — СД4-хелперного типа (80 %) и СДЗ-супрессорного типа (20 %). В-лимфоциты в корковом веществе лимфатического узла содержатся внутри первичных и вторичных лимфоидных фолликулов (узелков). Интердигитальные ретикулярные (дендритные клетки) могут быть идентичны клеткам Лангерганса в эпителии, которые перемещаются в лимфатическую ткань с накопленными на их поверхности антигенами.

Каждый лимфатический узел является агрегатом В-лимфоидных фолликулов, а в каждом фолликуле происходит экспансия нескольких В-клеточных клонов. Т-лимфоциты группируются вокруг этих фолликулов, функционируя совместно с В-клетками. На Т-клетках, непосредственно окружающих фолликулы , экспрессированы специализированные молекулы межклеточного взаимодействия, которые служат молекулами адгезии при контакте Т- и В-клеток и помогают осуществить Т-В-взаимодействие в процессе созревания и секреции антител.

Барьерные клетки фибробластного происхождения объединяются, обозначая путь крови и участки секвестрации. Макрофаги совместно с барьерными клетками предотвращают развитие инфекции и участвуют в иммунном ответе. Афферентные лимфатические сосуды, содержащие лимфу, антигены, лимфоциты и макрофаги, проникают в субкапсулярное пространство. Лимфа попадает в паракортикальные и медуллярные области, медуллярные синусы и, наконец, в эфферентные лимфатические сосуды. Артерии доставляют Т-клетки из тимуса и В-клетки из костного мозга к лимфатическим узлам. В - и Т-клетки входят внутрь лимфатического узла, проходят через его венулы, где эндотелиальные клетки распознают лимфоциты и направляют их в лимфатический узел. Структурный и клеточный состав лимфатических узлов позволяет взаимодействовать антигену и лимфоцитарным клеткам, которые определяют оптимальный уровень активации иммунного ответа.

Лимфатические узлы могут увеличиваться в размере и при нормальных условиях, но чаще это происходит при значительно усиленном иммунном ответе, а также при некоторых патологических состояниях:

а) увеличение тока крови и клеточного состава как части иммунного ответа;

б) явные инфекции или воспаление непосредственно лимфатического узла (лимфаденит);

в) захват клеточных остатков или конечных продуктов метаболизма макрофагами или клетками накопления при некоторых болезнях накопления;

г) вовлечение в первичный опухолевый процесс или метастазы лимфоретикулярных или солидных опухолей.

**1.4. Морфофункциональные особенности тимуса**

**(вилочковой железы) и его роль в гемопоэзе**

Тимус находится в переднем средостении. Эта двудольная железа при рождении весит 10-15 г, быстро увеличивается до 20-40 г и затем ее масса уже не изменяется значительно. Хотя с возрастом количество лимфоидной ткани постепенно уменьшается и в железе начинает преобладать жировая ткань, тимус сохраняет иммунологическую активность. Он закладывается на восьмой неделе жизни эмбриона из 3-го и 4-го жаберных карманов как эпителиальный орган, заполняемый тимоцитами (Т-клетками), которые происходят из костномозговых протимоцитов. Т-клеточные маркеры характеризуют стадии развития Т-клеток в тимусе. Железа подразделяется на дольки капсульными перегородками. В каждой дольке имеются кортикальная и медуллярная зоны. Кортикальная зона содержит 95 % тимических лимфоцитов, а также поддерживающие эпителиальные клетки (эпителиальные ретикулярные клетки). Протимоциты входят в паренхиму тимуса высоко в корковом веществе и продвигаются глубже к кортикомедуллярному переходу, созревая по мере перемещения. Они взаимодействуют со стромальными клетками (эпителиальными ретикулярными клетками, ретикулярными клетками, барьерными клетками и макрофагами), которые "обучают" развивающиеся Т-клетки различать свой и чужеродный антигенный материал.

Мозговое вещество содержит 5% лимфоцитов тимуса. Это зрелые Т-клетки. Наиболее широко представленные клеточные элементы – многогранные эпителиальные клетки, которые могут принимать неправильный кольцевой, пластинчатый вид с центральным некрозом, кальцификацией и формированием кист.

Такие структуры называются тимическими тельцами, или тельцами Гассаля. Они представляют собой конечную стадию тимико-медуллярно-эпителиальной дифференцировки. В кортико-медуллярной зоне или в мозговом веществе Т-лимфоциты попадают в вены либо лимфатические сосуды и продвигаются к селезенке, а затем повторно попадают в рециркулирующий пул лимфоцитов. Приблизительно 95% лимфоцитов погибают внутри коры тимуса, и только 5% выходят в кровоток как иммунокомпетентные клетки.

Тимическое развитие Т-клеток происходит преимущественно в детском и юношеском возрасте. После второго десятилетия жизни тимус в значительной степени подвергается инволюции, хотя некоторая тимическая активность все еще имеет место и у взрослого. Некоторые этапы развития Т-клеток в эмбриогенезе, как представляется, происходят вне тимуса, возможно в лимфатических узлах, но детали этого процесса неизвестны. Как только лимфоциты дифференцируются в зрелые Т-клетки, они начинают циркулировать по организму. Их иммунная функция реализуется в основном в лимфатических узлах, где они индуцируют созревание В-клеток и превращение последних в плазматические клетки, секретирующие антитела. Некоторые другие аспекты Т-клеточной иммунной функции выполняются за пределами лимфоидной ткани.

Тимус, таким образом, отвечает за инициацию созревания Т-клеток и развитие их способности распознавать "свои" клетки. Железа подвергается инволюции при нормальном старении, стрессах и болезнях. Может наблюдаться гипертрофия, вызванная трийодтиронином, пролактином и гормоном роста. Изредка после химиотерапии при системных новообразованиях химически и гормонально угнетенная железа значительно увеличивается в размере и причиняет беспокойство, но обычно этот процесс доброкачественный. Иногда образуются тимомы — опухоли, которые имеют важные иммунологические последствия и могут быть связаны с такими заболеваниями, как myasthenia gravis или парциальная красно-клеточная аплазия. Тимомы бывают злокачественными и инвазивными, но редко — с отдаленными метастазами.

**2. Нормальная миелограмма. Сущность понятия, приготовление и окраска мазков, значение исследования**

Миелограмма — процентное соотношение клеточных элементов в мазках, приготовленных из пунктатов костного мозга. Костный мозг содержит две группы клеток: клетки ретикулярной стромы (фибробласты, остеобласты, жировые и эндотелиальные клетки), составляющие абсолютное меньшинство по численности, и клетки кроветворной ткани (паренхимы) костного мозга с их производными зрелыми клетками крови.

Материал для исследования получают пункцией губчатых костей по методу, предложенному М.И.Аринкиным в 1927 г. Пунктируют чаще всего грудину в области рукоятки или верхней трети ее тела по срединной линии. Прокол осуществляют с помощью особых игл. Удобно и безопасна игла Кассирского, имеющая щиток-ограничитель, который можно установить на необходимую глубину в зависимости от толщины кожи и подкожной клетчатки. Аспирацию костного мозга производят шприцем вместимостью на более 10-20 мл (для обеспечения нужного вакуума предварительно проверяют, не пропускает ли шприц воздух).

При аспирации костного мозга всегда насасывание крови тем больше, чем больше получено аспирата. Обычно разведение пунктата периферической кровью не превышает 2,5 раза. Признаки большой степени разведения костного мозга периферической кровью следующие:

* бедность пунктата клеточными элементами;
* отсутствие мегакариоцитов;
* резкое увеличение лейкоэритробластического соотношения (при соотношении 20:1 и выше пунктат не исследуют);
* снижение индекса созревания нейтрофилов до 0,4-0,2;
* приближение процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов и/или лимфоцитов к их числу в периферической крови.

При исследовании костного мозга определяют абсолютное содержание миелокариоцитов (ядерных элементов костного мозга), мегакариоцитов, подсчитывают процентное содержание элементов костного мозга.

Следующим этапом исследования клеточных элементов крови служит морфологическое исследование. Оно позволяет определить ряд особенностей клеток: величину, форму, окрашиваемость, свойство ядер, характер включений и т.д.

Изучению подвергают окрашенные мазки пунктатов костного мозга, лимфатических узлов и селезенки, а также отпечатки биопсированных кусочков ткани.

При пункции костного мозга, лимфатических узлов или селезенки ребром шлифованного стекла с поверхности забирают небольшое количество пунктата, затем этим стеклом делают мазки на предметных стеклах. Приготовленные мазки высушивают на воздухе; на середине мазка обычно отмечают иглой или карандашом фамилию исследуемого и дату.

***Окраска мазков.*** Окрашивание сухих мазков производят после предварительной фиксации. Лучшая фиксация достигается в абсолютном метиловом спирте (3-5 мин) или в смеси Никифорова из равных частей абсолютного этилового спирта и эфира (30 мин).

Принцип всех предложенных окрасок основан на химическом сродстве различных составных частей клетки определенным красящим веществом, обычно анилиновым краскам. Ядро, содержащее в значительном количестве нуклеиновые кислоты, связывает главным образом основные краски и являются базофильным. Цитоплазма одних кровяных клеток (ортохромные нормобласты, эритроциты и др.) оксифильна, т.е. поглощает преимущественно кислые краски, других (молодые формы, лимфоциты) - базофильна. Включения в цитоплазму имеют различную окраску в зависимости от сродства к тому или иному красителю. Если они воспринимают оба красителя одновременно, то окрашиваются метахроматически.

К основным гематологическим краскам относятся метиленовый синий и его производное-азур1 (метиленовый азуровый) и азур2 (смесь равных частей азура1 и метиленового синего), к кислым – водорастворимый желтый эозин.

Из множества предложенных способов окраски наиболее распространенными являются окраска по Романовскому-Гимзе и окраска Мая-Грюнвальда-Романовского-Гимзы по Паппенгейну.

Окраска по Романовскому-Гимзе. В этом способе удается хорошо дифференцировать ядро, но гораздо хуже - нейтрофильную зернистость цитоплазмы, поэтому его используют широко только для окраски мазка периферической крови.

Комбинированная окраска Мая-Грюнвальда-Романовского-Гимзе по Паппенгейму. На нефиксированный мазок наливают пепеткой готовый краситель-фиксатор Мая-Грюнвальда, представляющий собой раствор эозинметиленового синего в метиловом спирте, на 3 мин. Через 3 мин к покрывающей мазок краске добавляют равное количество дистиллированной воды и продолжают окрашивание еще 1 мин. После этого краску смывают и мазок высушивают на воздухе. Затем высушенный мазок докрашивают свежеприготовленным водным раствором краски Романовского в течении 8-15 мин. Этот метод считается наилучшим для окраски мазков костномозговых пунктатов.

Показатели нормальной миелограммы приведены в табл. 29.

**Таблица 29.** Миелограмма в норме [Соколов В.В., Грибова И.А., 1972]

|  |  |
| --- | --- |
| Элементы костного мозга | Количество, % |
| Бласты МиелобластыНейтрофилы:промиелоцитымиелоцитыметамиелоцитыпалочкоядерные сегментоядерныеВсе нейтрофильные элементыЭозинофилы (всех генераций)БазофилыЛимфоцитыМоноцитыПлазматические клеткиЭритробластыПронормоцитыНормоциты:• базофильные• полихроматофильные• оксифильныеВсе эритроидные элементы Ретикулярные клеткиИндекс созревания эритрокариоиитов Лейкоэритробластическое соотношение Количество миелокариоцитов в норме Количество мегакариоцитов в нормеКостно-мозговой индекс нейтрофилов | 0,1-1,10,2-1,71,0-4,1 7,0-12,28,0-15,0 12,8-23,713,1-24,152,7-68,90,5-5,8 0-0,5 4,3-13,7 0,7-3,10.1-1,80,2-1,10,1-1,21,4-4,68,9-16,90,8-5,614.5-26,50,1-1,60,7-0,92,1-4,5(41,6-195,0) 109/л(0,05-0,15). 109/л, или 0,2-0,4 % костномозговыхэлементов0,5-0,9 |

В мазках пунктата костного мозга подсчитывают не менее 500 клеточных элементов, а затем вычисляют содержание каждого вида клеток в процентах.

При оценке пунктатов костного мозга, кроме процентного содержание клеточных элиментов, учитывают соотношение молодых и более зрелых форм нейтрофилов (костномозговой индекс нейтрофилов), отношение гемоглобинсодержащих нормобластов ко всем клеткам эритроцитарного ряда (индекс созревания эритрокариоцитов), и отношение всех клеток лейкоцитарного ряда ко всем клеткам эритроцитального ряда (лейкоэритробластическое отношение), которое в норме равно 3(4):1

Костномозговой индекс нейтрофилов

= 

Индекс созревания эритронормобла**стов=**

В диагностике различных заболеваний с вовлечением костного мозга (миелофиброз, эритремия, апластическая анемия, метастазы рака, лимфомы) важным методом служит прижизненное гистологическое изучение костного мозга путем трепанобиопсии передней части гребешка подвздошной кости или других областей скелета. В препаратах подсчитывают соотношение жировой гемопоэтической ткани (с помощью окулярной сетки при увеличении 10х5) и производят дифференцированный подсчет клеточных элементов при увеличении 90х7.

В настоящее время биопсия костного мозга — обязательный метод диагностики в гематологии, так как позволяет оценивать тканевые взаимоотношения в костном мозге.

Костный мозг исследуют для подтверждения или установления диагноза различных форм гемобластозов и анемий. Миелограмму необходимо оценивать, сопоставляя ее с картиной периферической крови. Диагностическое значение имеет исследование костного мозга при поражении его лимфогранулематозом, туберкулезом, болезнью Гоше, Нимана-Пика, метастазами опухолей, висцеральным лейшманиозом. Это исследование широко используют в динамике для оценки эффективности проводимой терапии.

**2.1. Значение изменений миелограммы.**

*Уменьшение содержания миелокариоцитов* наблюдают при гипопластических процессах различной этиологии, воздействии на организм человека ионизирующего излучения, некоторых химических и лекарственных веществ и др. Особенно резко количество ядерных элементов снижается при апластических процессах. При развитии миелофиброза, миелосклероза костномозговой пунктат скуден и количество ядерных элементов в нем также снижено. При наличии между костномозговыми элементами синцитиальной связи (в частности, при миеломной болезни) пунктат получают с трудом, поэтому содержание ядерных элементов в пунктате может не соответствовать истинному количеству миелокариоцитов в костном мозге.

*Высокое содержание миелокариоцитов* наиболее выражено при лейкозах, В12-дефицитных анемиях, гемолитических и постгеморрагических анемиях, т.е. при заболеваниях, сопровождающихся гиперплазией костного мозга.

*Мегакариоциты и мегакариобласты* встречаются в препаратах костного мозга в небольшом количестве, они располагаются по периферии препарата; процентное отношение их в миелограмме не отражает истинного положения, поэтому их не подсчитывают. Обычно проводят лишь ориентировочную, субъективную оценку относительного сдвига в направлении более молодых или зрелых форм.

*Увеличение количества мегакариоцитов и мегакариобластов* может вызывать миелопро-лиферативные процессы и метастазы злокачественных новообразований в костный мозг (особенно при раке желудка). Содержание м era кари о пито в возрастает также при идиоматической аутоиммунной тромбоцитопении, лучевой болезни в период восстановления, хроническом миелолейкозе.

*Уменьшение количества мегакариоцитов и мегакариобластов* (тромбоцитопении) может вызывать гипопластические и апластические процессы, в частности при лучевой болезни, иммунные и аутоиммунные процессы, метастазы злокачественных новообразований (редко). Содержание мегакариоцитов снижается также при острых лейкозах, В12-дефицитных анемиях, миеломной болезни, системной красной волчанке.

*Увеличение количества бластных клеток* с появлением полиморфных уродливых форм на фоне клеточного или гиперклеточного костного мозга характерно для острых и хронических лейкозов.

*Мегалобласты и мегалоциты различных генераций*, крупные нейтрофильные миелоциты, метамиелоциты, гиперсегментированные нейтрофилы характерны для В12-дефицитной и фолиеводефицитной анемий.

*Увеличение количества миелоидных элементов*, их зрелых и незрелых форм (реактивный костный мозг), вызывает интоксикации, острое воспаление, гнойные инфекции, шок, острую кровопотерю, туберкулез, злокачественные новообразования.

Промиелоцитарно-миелоцитарный костный мозг с уменьшением числа зрелых гранулоцитов на фоне клеточной или гиперклеточной реакции может вызывать миелотоксические и иммунные процессы.

Резкое уменьшение содержания гранулоцитов на фоне снижения миелокариоцитов характерно для агранулоцитоза.

*Эозинофилия* костного мозга возможна при аллергии, глистных инвазиях, злокачественных новообразованиях, острых и хронических миелоидных лейкозах, инфекционных заболеваниях.

*Увеличенное количество моноцитоидных клеток* находят при острых и хронических моноцитарных лейкозах, инфекционном мононуклеозе, хронических инфекциях, злокачественных новообразованиях.

*Повышение содержания атипичных мононуклеаров* на фоне уменьшения зрелых миелокариоцитов может вызывать вирусные инфекции (инфекционный мононуклеоз, аденовирус, грипп, вирусный гепатит, краснуха, корь и др.).

*Увеличение количества лимфоидных элементов,* появление голоядерных форм (тени Гумпрехта) при клеточном костном мозге могут давать лимфопролиферативные заболевания (хронический лимфолейкоз, макроглобулинемия Вальденстрема, лимфосаркома).

*Повышение содержания плазматических клеток* с появлением их полиморфизма, двуядерных клеток, изменением окраски цитоплазмы могут вызывать плазмоцитомы (плазмобластомы, а также реактивные состояния).

Увеличение количества эритрокариоцитов без нарушения созревания возможно при эритремии.

*Увеличение содержания эритрокариоцитов и уменьшение лейкоэритробластического соотношения* могут вызывать постгеморрагические анемии и большинство гемолитических анемий.

*Уменьшение содержания эритрокариоцитов* при снижении общего количества миелокариоцитов и небольшого (относительного) увеличения бластных клеток, лимфоцитов, плазмоцитов наблюдается при гипоапластических процессах.

*Раковые клетки и их комплексы* выявляют при метастазах злокачественных опухолей.

Для оценки миелограммы важно не столько определение количества костномозговых элементов и их процентного содержания, сколько их взаимное соотношение. Судить о составе миелограммы следует по специально рассчитанным костномозговым индексам, характеризующим эти соотношения.

*Индекс созревания эритрокариоцитов*, характеризуя состояние эритроидного ростка, представляет собой отношение процентного содержания нормобластов, содержащих гемоглобин (т.е. полихроматофильных и оксифильных), к общему процентному содержанию всех нормобластов. Уменьшение этого индекса отражает задержку гемоглобинизации, преобладание молодых базофильных форм (например, В12-дефицитная анемия).

Индекс созревания эритрокариоцитов снижается при железодефицитных и иногда при гипопластических анемиях.

*Индекс созревания нейтрофилов* характеризует состояние гранулоцитарного ростка. Он равен отношению процентного содержания молодых элементов зернистого ряда (промиелоцитов, миелоцитов и метамиелоцитов) к процентному содержанию зрелых гранулоцитов (палочкоядерных и сегментоядерных). Увеличение этого индекса при богатом костном мозге свидетельствует о задержке созревания нейтрофилов, при бедном костном мозге – о повышенном выходе зрелых клеток из костного мозга и истощении гранулоцитарного резерва.

Увеличение индекса созревания нейтрофилов фиксируют при миелолей козах, лейкемоидных реакциях миелоидного типа, некоторых формах агранулоцитоза; его уменьшение – при задержке созревания на стадии зрелых гранулоцитов или задержке их вымывания (при гиперспленизме, некоторых инфекционных и гнойных процессах).

*Лейкоэритробластическое соотношение* представляет собой отношение суммы процентного содержания всех элементов гранулоцитарного ростка к сумме процентного содержания всех элементов эритроидного ростка костного мозга. В норме это соотношение составляет 2:1—4:1, т.е. в нормальном костном мозге число белых клеток в 2—4 раза превышает красных. Увеличение индекса при богатом костном мозге (>150·109/л) свидетельствует о гиперплазии лейкоцитарного ростка (хронический лейкоз); при бедном пунктате (< 80·109/л) — о редукции красного ростка (апластическая анемия) или большой примеси периферической крови. Уменьшение индекса при богатом костном мозге свидетельствует о гиперплазии красного ростка (гемолитическая анемия), при бедном пунктате — о преимущественной редукции гранулоцитарного ростка (агранулоцитоз).

Лейкоэритробластическое соотношение уменьшается при гемолитических, железодефицитных, постгеморрагических, В12-дефицитных анемиях.

Лейкоэритробластическое соотношение увеличивается при лейкозах и иногда при угнетении эритроидного ростка при гипопластической анемии.

1. **Нормальные лимфоаденограмма и спленограмма.**

**Сущность, нормальные показатели**

Подсчет лимфаденограммы и спленограммы осуществляют после пункции соответствующего органа в сухих окрашенных мазках. Подсчет производят по обычному правилу, как было указано при подсчете миелограммы.

**Таблица 30.** Лимфаденограмма в норме **(**при подсчете на 1000 клеток по Lucas, 1955)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Тип клеток | Колебания, % | Тип клеток | Колебания, % |  |
| РетикулярныеТучныеЛимфобластыПролимфоцитыЛимфоцитыПлазмобластыПроплазмоциты | 0-0,10-0,50,1-0,95,3-16,467,8-90,00-0,10-0,5 | ПлазматическиеМонобластыМоноцитыНейтрофилыЭозинофилыБазофилы | 0-4,70-0,50,2-7,40.2-2,20-0,30-0,2 |

**Таблица 31.** Спленограмма в норме (при подсчете на 1000 клеток по Moeschlin, 1951)

|  |  |
| --- | --- |
| Тип клеток | Колебания % |
| Ретикулярные клетки | 0,5-1,8 |
| Лимфобласты | 0-0,2 |
| Пролимфоциты | 1,0-10,5 |
| Лимфоциты | 57,0-84,5 |
| Плазматические клетки | 0-0,3 |
| Нормобласты | 0,1-0,2 |
| Промиелоциты | 0-0,1 |
| Миелоциты | 0,05-0,2 |
| Метамиелоциты | 0,05-0,1 |
| Палочкоядерные нейтрофилы | 1,0-7,0 |
| Сегментоядерные нейтрофилы | 8,0-25,0 |
| Эозинофилы зрелые | 0,2-15 |
| Базофилы зрелые | 0,1-1,1 |
| Моноциты | 1,2-2,4 |
| Мегакариоциты | 0 |

В таблицах 30 и 31 приведены типы и процентное соотношение клеток, встречающихся в пунтктатах в лимфо узлах и селезенки здоровых лиц.

При ряде гипоталогическических заболеваний (лимфогранулематоз, лимфома), помимо пункции лимфоузла, производят биопсию его с изучением гистологических срезов или отпечатков.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Влияние лекарственных средств на результаты лабораторных методов исследования / Под ред. Проф. А.А. Спасова. – М.: Фармединфо, 1995. – 82 с.
2. Клиническая оценка биохимических показателей при заболеваниях внутренних органов / В.Г. Передерий, Ю.Г. Хмелевский, Л.Ф. Коноплева и др. – Киев: Здоров’я, 1993. 192 с.
3. Козинец Г.И. Интерпретация анализов крови и мочи. – СПб., 1997. – 128 с.
4. Козловская Л.В., Мартынова М.А. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования (с элементами программирования0 / Под ред. Акад. Е.М. Тареева, проф. А.В. Сумарокова. – М.: Медицина, 1975. – 352 с.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Лабораторная диагностика хирургических заболеваний. – Минск: Высшейш. шк., 1993. – 185 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Спрв. / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др.; Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Норма в медицинской практике: Спрв. пособие. – М.: ООО «МЕДпресс», 1998. – 144 с.
8. Окороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов: Т. 4. Диагностика болезней системы крови. – М.: мед. лит., 2003. – 512 с.
9. Окороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов: Т. 5. Диагностика болезней системы крови. Диагностика болезней почек. – М.: мед. лит., 2002. – 512 с.
10. Патологическая физиология / В.А. Фролов, Г.А. Дроздова, Т.А. Казанская и др. – М., 1997. – 568 с.
11. Предтеченский В.Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям / Под. ред. Л.Г. Смирновой и Е.А. Кост. – М.: Медгиз, 1960.
12. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. Ч 1-2. / М.А. Базарнова, А.И. Воробьев, З.С. Баркаган и др.: под. ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – Киев: Вища шк., 1991. – 615 с.
13. Руководство по медицине. Диагностика и терапия: Пер. с англ. В 2 т. / Под ред. Р. Беркоу, Э. Флетчера. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – 1045 с.; Т 2. – 872 с.
14. Справочник практического врача / Под ред. А.И. Воробьева. – М.: Баян, 1992. – 608 с.
15. Станковская И.М., Шифрина Р.С. Побочное действие лекарственных средств: Обзор. информ. ВНИИМИ. – М.: Медицина, 1985. – Вып. 15, № 6. – 38 с.
16. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. – София: Медицина и физкультура, 1961. – 784 с.
17. Чекман И.С. Биохимическая фармакодинамика. – Киев: : Здоров’я, 1991. – 200 с.
18. Чиркин А.А., Окороков А.Н., Гончарик И.И. Диагностический справочник терапевта, – 2-е изд. – Минск: Беларусь, 1992. – 668 с.
19. Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови. Пер. с англ. – М. – СПб.: «Издательство БИНОМ» – «Невский диалект», 2000. – 448.
20. Юрковский О.И., Грицюк А.М. Общеклинические анализы в практике врача. – М., 1997. – 123 с.
21. Henry J.B. Clinical diagnosis and management by Laboratory Methods. – Philadelphia, PA: Saunders, 1991.
22. Ravel R. Clinical Laboratory Medicine. – Chicago, 1989. – 692 p.
23. Winter ME et al. Basic Clinical Pharmacokinetics. Applied Therapeutics. – Vancouver, 1994. – 93 p.
24. Yong L.Y., Holland E.G. Interpretation of clinical Laboratory tests. In “Applied Therapeutics”/ Edited by Lloid Yee Young. – Vancouver, 1996. –136 p.

