

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ  
Кафедра клинической лабораторной диагностики**

**И.В. Тарасюк, Е.Г. Жукова**

**ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ  
ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Учебное пособие.**

**Утверждено Научно-методическим советом института в качестве  
учебного пособия , протокол №**

**Гомель, 2003**

**УДК**

**Рецензенты: проректор , профессор Аничкин В.В.  
зав. кафедрой терапии №1 Мистюкевич И.И.**

**Тарасюк И.В., Жукова Е.Г. Гематологические лабораторные методы исследования: Учебное пособие. – Гомель: ГоГМИ, 2003. – 67с.**

**В пособии освещены основные этапы кроветворения, особенности системы крови в детском возрасте; представлены принципы клинической интерпретации параметров общего анализа крови; лабораторных данных, полученных с помощью гематологических анализаторов; дана лабораторная диагностика основных гематологических заболеваний.**

**Учебное пособие предназначено для студентов 5-6 курсов медицинского института, врачей-стажеров, врачей-лаборантов.**

## Оглавление

Основные этапы кроветворения.	4
Возрастные особенности кроветворения у детей.	7
Исследование периферической крови:	10
• Взятие крови для гематологического исследования.	11
• Гемоглобин.	12
• Эритроциты:	13
1. изменение размеров эритроцитов;	15
2. изменение формы эритроцитов;	16
3. эритроцитарные индексы.	20
• Лейкоциты.	24
• Лейкоцитарная формула.	30
Принципы работы гематологических анализаторов.	35
Диагностика анемий.	37
Диагностика острых лейкозов.	41
Диагностика хронических лейкозов.	44
Литература.	65

## **Основные этапы кроветворения.**

Функциональная система крови включает в свой состав органы кроветворения, кроверазрушения, кровь в сосудистом русле.

Кроветворная ткань представляет собой динамическую, постоянно обновляющуюся систему, механизм регуляции которой действует по принципу обратной связи.

Эмбриональное кроветворение проходит несколько стадий, каждая из которых характеризуется определенным местом преимущественного кроветворения. Вначале гемопоэз проходит в желточном мешке, затем в печени и перед рождением - в костном мозге, который в норме остается единственным органом кроветворения на протяжении всей жизни человека.

Первая волна пролиферативной активности стволовых гемопоэтических клеток в печени приходится на 9-10 неделю гестации.

Второй пик концентрации гранулоцитарно-моноцитарных предшественников приходится на 18-20 неделю гестации. В этот период отличается резкое увеличение их содержания в костном мозге. Полное затухание печеночного кроветворения происходит перед рождением на 40-й неделе.

Гемопоэтические клетки отличаются большим разнообразием как по ультраструктуре, функциональному составу, так и по степени зрелости. Выделяют несколько классов клеток:

- I – класс стволовых клеток.
- II – класс полипотентных и бипотентных клеток. Включает клетки-предшественницы миелопоэза и лимфопоэза.
- III – класс уни- или монопотентных клеток-предшественниц одного ростка.

Клетки 1-3 класса морфологически неразличимы.

- IV класс составляют клетки-родоначальницы рядов. Из бластных клеток четко морфологически отличимы эритробласты и мегакариобласты.

□ V класс созревающих и зрелых клеток.

Время от стволовой клетки, вставшей на путь дифференцировки, до выхода зрелой клетки из костного мозга в эритроидном ряду составляют около 12 суток, в гранулоцитарном 13-14 суток. За это время клетки эритроидного ростка прodelывают 11-12 делений, а клетки грануцитарного 15-20.

Образующиеся в костном мозге клетки равномерно поступают по мере созревания в кровеносное русло, причем, время циркуляции клеток различного типа также постоянно: эритроциты находятся в кровотоке 120 сут., тромбоциты - 10 суток, а нейтрофилы - 10 часов. В обычных условиях костномозговое кроветворение не только покрывает потребности организма, но и производит довольно большой запас клеток: зрелых нейтрофилов в костном мозге человека содержится в 10 раз больше, чем в кровеносном русле. Что касается ретикулоцитов, то в костном мозге имеется их трехдневный запас.

Основную массу эритроцитов в крови представляют дискоциты (около 90%). Изменение микроэластических свойств эритроцитов и преобразование дискоцита в другие морфологические формы могут вызвать различные агенты.

Структуру мембраны эритроцита можно представить следующим образом: на внешней наружной части расположены липиды, сиаловая кислота, антигенные олигосахариды, адсорбированные протеины. На внутренней поверхности расположены гликолитические ферменты,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , АТФ-аза, гликопротеины, Hb.

На форму эритроцитов влияют как внешние, так и внутренние факторы. Прежде всего, взаимосвязь между мембраной и состоянием Hb (деоксигенированный, полимеризованный, денатурированный). Примерно с 60-го дня после выхода эритроцитов в кровяное русло снижается активность различных ферментов, прежде всего, гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидратазы. Это приводит к нарушению гликолиза; в результате уменьшается потенциал энергетических процессов в эритроцитах. Изменения внутриклеточного облика связаны со

старением клетки и в итоге приводят к ее разрушению. Ежедневно около 200 млрд. эритроцитов подвергаются деструкции и погибают.

Основная особенность гранулоцитов - это наличие зернистости - азурофильной и специфической. В азурофильной зернистости содержится пероксидаза и различные лизосомальные ферменты. Специфические гранулы отрицательны на пероксидазу и содержат щелочную фосфатазу и основные белки. Так, например, лизоцим обнаруживается в основном в нейтрофилах и моноцитах. В зрелых гранулоцитах лизоцим присутствует в постоянных количествах, примерно 2-4 мкг на  $1 \times 10^6$  клеток. Дневная продукция лизоцима в организме человека составляет 300 мг. Азурофильные и специфические гранулы являются источником ряда бактерицидных веществ. Часть из них (фагоцитин, лейкин, катионные белки, лактоферин) не обладает ферментативной активностью, изменяет дыхание бактериальных клеток, воздействуя на анионные группировки их мембран. Другие (миелопероксидаза, лизоцим) имеет ферментативную активность и отличаются непосредственным бактерицидным, антивирусным, микоплазмацидным действием. По мере созревания поверхность гранулоцитов приобретает качества, которые способствуют прохождению костномозгового барьера, сосудистой интимы, передвижению и выполнению фагоцитоза.

Схематически функциональные свойства клеток крови можно представить следующим образом:

- эритроциты осуществляют перенос  $O_2$  к тканям.
- лимфоциты ответственны за клеточный и гуморальный иммунитет.
- нейтрофилы и макрофаги - одно из звеньев клеточного иммунитета.
- эозинофилы участвуют в аллергических реакциях.
- базофилы содержат гепарин и гистамин.
- моноциты - источники тканевых макрофагов.
- тромбоциты - один из ведущих компонентов свертывания крови.

Период жизни зрелых клеток крови в сосудистом русле ограничен, и для их постоянного обновления гемопоэз находится под строгим контролем. Считается, что пролиферацию ПСК индуцируют цитокины и стимулирующие рост гормоны, секретирующиеся как кроветворными, так и некроветворными клетками (фибробласты, клетки эндотелия). Растворимые формы таких регуляторных молекул объединены под общим названием «гемопоэтические факторы роста» (ГФР) и включают:

- эритропоэтин (ЭП)
- колониестимулирующие факторы (КСФ)
- интерлейкины (ИЛ)
- факторы стволовой клетки (ФСК)

### **Возрастные особенности кроветворения у детей**

У ребенка грудного возраста костные полости заполнены активной гемопоэтической тканью (красный костный мозг). По мере роста и развития ребенка в длинных трубчатых костях она постепенно вытесняется жировой тканью (желтый костный мозг). Процесс кроветворения у детей старшего возраста и взрослых в основном протекает в ребрах, груди, позвонках, тазовых костях, костях черепа, в ключицах и лопаточных костях.

При исследовании костного мозга при многих гематологических заболеваниях можно получить ценную информацию. Его аспирация — безопасный и технически простой метод. Цитологическое изучение костного мозга свидетельствует о том, что существует относительная идентичность в клеточном составе всего костного мозга человеческого организма.

У детей грудного возраста предпочтительным местом аспирации служит проксимальный отдел большеберцовой и задний гребень подвздошной кости. У детей старшего возраста задний гребень подвздошной кости позволяет подойти к обширному костномозговому пространству, не граничащему с магистральными кровеносными сосудами или жизненно важными органами. Биопсия с

помощью трепана позволяет точнее оценить клеточный состав костного мозга, чем обычный метод аспирации. Она отличается также определенной ценностью при выявлении очагового поражения костного мозга при метастатическом или гранулематозном процессе. Костномозговое кроветворение у детей и взрослых не имеет существенных различий. Следует только отметить, что в миелограмме у детей диапазон колебаний отдельных клеточных элементов весьма широк. Поэтому для оценки функционального состояния гемопоэза целесообразно руководствоваться не столько количественными показателями, сколько их соотношениями, выражаемыми костномозговыми индексами.

При пункции детей раннего возраста иногда обнаруживается значительное увеличение (до 50%) числа лимфоцитов в пунктате, что может быть объяснено попаданием иглы в островки лимфатического кроветворения, чаще встречающихся у детей этой возрастной группы.

Число бластных клеток у детей в разные возрастные периоды существенно не выходит за пределы допустимых колебаний этих значений у взрослых. Зрелые нейтрофилы и эозинофилы закономерно преобладают над своими молодыми стадиями во всех возрастных группах. Таким образом, основным отличием костного мозга детей от костного мозга взрослых можно считать увеличение процентного содержания лимфоцитов в первые 5—7 лет жизни (не считая период новорожденности).

В течение всего периода детства в системе крови выявляются закономерные возрастные особенности. По данным многих авторов имеется характерная динамика изменений гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов и других гематологических показателей в первые дни, месяцы и годы после рождения.

Так количество эритроцитов и содержание гемоглобина у ребенка при рождении больше, чем у взрослого, что объясняется так называемой плацентарной трансфузией и гемоконцентрацией. Следует иметь в виду, что в первые часы жизни разница в концентрации гемоглобина в капиллярной и венозной

крови составляет около 35 г/л, иногда достигая 100 г/л, к 5 дню жизни эта разница исчезает. Таким образом, показатели венозного гемоглобина менее 130 г/л и капиллярного менее 145 г/л у детей первых 2 недель жизни должны расцениваться как анемия.

В течение первой недели жизни уровень гемоглобина начинает снижаться. Минимальный уровень его наблюдается в 2—6 месячном возрасте и составляет в этот период 100—130 г/л. Аналогичная динамика наблюдается и со стороны эритроцитов, число которых к концу первого полугодия достигает  $4,6 - 3,1 \times 10^{12}$  /л. Это уменьшение концентрации гемоглобина и числа эритроцитов является результатом повышенного гемолиза фетальных эритроцитов (продолжительность жизни эритроцитов новорожденного - 60 - 70 дней) и невысокого уровня эритропоэза. Последнее обусловлено низкой выработкой эритропоэтина при переходе от относительной внутриутробной гипоксии плода при плацентарном кровообращении на артериализацию крови в легких, когда насыщенность крови кислородом резко возрастает (с 45% внутриутробно до 95% после рождения). Уровень эритропоэтина возрастает после снижения концентрации гемоглобина у ребенка до 100—110 г/л.

Для новорожденных первой недели жизни характерны: отчетливый анизоцитоз (макроцитоз), гиперхромия, полихроматофилия и ретикулоцитоз (0,8-4,3%); которые к 7-8 дню жизни значительно уменьшаются. В крови новорожденных могут встречаться единичные нормобласты. Макроцитоз и гиперхромия, характерные для первых дней жизни, в дальнейшем исчезают, и в возрасте от 2 месяцев до 2 лет показатели MCV и MCH ниже соответствующих показателей взрослых.

Число лейкоцитов при рождении колеблется между  $10$  и  $30 \times 10^9$  /л, затем быстро падает, и к 15 дню составляет  $9-14 \times 10^9$  /л. В дальнейшем число лейкоцитов постепенно снижается и к 15 годам достигает уровня взрослого человека.

Количество нейтрофилов в течение первых дней жизни преобладает над

количеством лимфоцитов. Как правило, в течение первых 2 недель встречаются миелоциты и метамиелоциты, в первые дни жизни выражен палочкоядерный сдвиг. В дальнейшем число нейтрофилов, как абсолютное, так и относительное, начинает снижаться, тогда как число лимфоцитов нарастает. В результате между 2 и 7 днем жизни происходит первый перекрест кривых нейтрофилов и лимфоцитов. Второй перекрест этих кривых чаще всего происходит в возрасте 4-6 лет, к 10 годам показатели крови в основном стабилизируются.

СОЭ у новорожденных детей несколько замедлена — от  $2,5 \pm 0,9$  мм/час в 1 день и до  $4,0 \pm 2,1$  мм/час на 2 неделе. На протяжении 1 года жизни СОЭ в среднем колеблется между  $5 \pm 2$  и  $8 \pm 3$  мм/час, в дальнейшем — между  $7 \pm 3$  и  $9 \pm 3$  мм/час.

Число тромбоцитов при рождении по Д.Е. Голланд в среднем равно  $219 \times 10^9$  /л ( $105-369 \times 10^9$  /л), затем количество их падает, и в возрасте от 6 часов до 6 дней составляет  $175 \times 10^9$  /л, а к концу недели снова увеличивается, и от 6 до 10 дня равно  $200 \times 10^9$  /л. Со стороны качественной оценки тромбоцитов отмечается анизоцитоз, наличие гигантских форм, несколько слабее окрашивающихся и, надо думать, недостаточно созревших и потому еще недостаточно полноценных. Анизоцитоз пластинок исчезает к 10-12 дню жизни новорожденного, к этому времени устанавливается более или менее постоянное количество для каждого ребенка.

### **Исследование периферической крови.**

Кровь представляет собой жидкость сложного состава — плазму, в которой суспензированы форменные элементы: эритроциты (Red Blood Cells, RBCs — красные кровяные клетки), лейкоциты (White Blood Cells, WBCs — белые кровяные клетки) и тромбоциты (Platelets, Plt). При коагуляции крови после отделения сгустка остается жидкость, которая называется сывороткой. В периферической крови в норме содержатся зрелые клеточные элементы. Незрелые предшественники находятся в органе кроветворения — красном костном мозге.

Из методов количественного и качественного исследования форменных элементов крови наиболее распространен общеклинический анализ крови: определение концентрации гемоглобина, цветового показателя, содержания эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы, описание особенностей морфологической картины клеток крови, оценка скорости оседания эритроцитов (СОЭ). При наличии изменений данных показателей дополнительно определяют количество ретикулоцитов и тромбоцитов. Эти исследования проводят всем стационарным больным. В амбулаторных условиях нередко ограничиваются недостаточно информативным определением количества гемоглобина, лейкоцитов и СОЭ (так называемой «тройки»). Клинический анализ периферической крови является одним из важнейших лабораторных тестов и иногда дает возможность сразу определить направление диагностического поиска (например, при появлении бластов в формуле крови или наличии гиперлейкоцитоза с абсолютным лимфоцитозом, тенями Гумпрехта). На основании клинического анализа крови трудно судить о гемопоэзе в целом. Более полное представление дает параллельное изучение костного мозга (цитологическое, цитохимическое и цитогенетическое).

При патологических состояниях гематологические изменения варьируют в зависимости от тяжести процесса, стадии заболевания и наличия осложнений, сопутствующей патологии, проводимой терапии. Необходимо учитывать, что изменения лабораторных показателей (например, изменение количества лейкоцитов и формулы крови) наблюдаются не только при патологических состояниях, но и при проведении некоторых диагностических процедур, изменении физиологического статуса организма (смена климата, время суток, возраст, физические нагрузки, гормональный фон).

### **Взятие и обработка крови**

Исследование рекомендуется проводить утром натощак или через 1 ч после легкого завтрака. Исследуют, главным образом, капиллярную кровь, можно использовать венозную кровь (также взятую натощак). Не рекомендуется брать

кровь после физической и умственной нагрузки, применения медикаментов, особенно при внутривенном или внутримышечном их введении, воздействия рентгеновских лучей и после физиотерапевтических процедур. В экстренных случаях этими правилами пренебрегают.

### **Гемоглобин (Hb)**

Гемоглобин — основной дыхательный пигмент и главный компонент эритроцита, относящийся к хромопротеинам и выполняющий важную функцию переноса кислорода из легких в ткани и транспорта углекислого газа и протонов из тканей в легкие. Он также играет существенную роль в поддержании кислотно-основного равновесия крови. Буферная система, создаваемая Hb, способствует сохранению pH крови в определенных пределах.

Гемоглобины представляют собой тетрамерные белки, молекулы которых образованы различными типами полипептидных цепей. В состав молекулы входят по две цепи двух разных типов. Полипептидная цепь каждой из субъединиц гемоглобина специфическим образом уложена вокруг большого плоского железосодержащего кольца гема — соединения протопорфирина IX с железом. Гем придает гемоглобину характерную окраску.

Свойства индивидуальных гемоглобинов неразрывно связаны как с их четвертичной, так и с вторичной и третичной структурами. Наиболее распространенные гемоглобины имеют следующую тетрамерную структуру: HbA (нормальный гемоглобин взрослого человека)  $\alpha_2\beta_2$ ; HbF (фетальный гемоглобин) —  $\alpha_2\gamma_2$ ; HbS ((гемоглобин при серповидноклеточной анемии) —  $\alpha_2S_2$ ; HbA<sub>2</sub> (минорный гемоглобин взрослого человека) —  $\alpha_2\delta_2$ . Четвертичная структура способствует выполнению гемоглобином его уникальной биологической функции и обеспечивает возможность строгой регуляции его свойств.

*Нормальные величины.* У здоровых людей концентрация гемоглобина в крови составляет: мужчины

132-164 г/л

женщины

115-145 г/л

Дневные колебания. Значения гемоглобина минимальны утром и максимальны вечером. Значимым изменением гемоглобина считается 15 г/л или более.

### ***Клиническое значение***

*Снижение содержания гемоглобина в крови* ниже нормы для данного пола и возраста называют *анемией*. Согласно критериям ВОЗ, анемия как клинический синдром определяется при снижении концентрации гемоглобина в периферической крови ниже 110 г/л для любого возраста и пола.

Следует иметь в виду, что диагностика анемии не может проводиться лишь на основании определения концентрации гемоглобина в крови. Это исследование только устанавливает факт наличия анемии. Для уточнения ее характера необходимо определение количества эритроцитов, цветового показателя, изучение морфологии эритроцитов и др. показателей.

### **Эритроциты (RBC — red blood cells — красные кровяные клетки)**

*Эритроциты* — наиболее многочисленные форменные элементы крови, основное содержание которых составляет гемоглобин. Зрелые эритроциты — безъядерные клетки, имеющие двояковогнутую дисковидную форму. Плоский диск лучше всего адаптирован к транспорту веществ как из клетки, так и внутрь ее, а также к диффузии газов к центру клетки. Площадь поверхности диска в 1,7 раза больше поверхности соответствующей по объему сферы и может умеренно изменяться без растяжения мембраны клетки. Двояковогнутая форма, эластичность, деформируемость и сохранение структуры клетки при удалении из нее гемоглобина зависят от особенностей строения эритроцита, прежде всего его цитоскелета. Цитоскелет эритроцитов отличается от цитоскелета ядерных клеток. У эритроцитов есть только поверхностный цитоскелет, который представляет собой устойчивое к действию детергентов соединение белков друг с другом и с мембраной, образующее своеобразную сеть вдоль внутренней поверхности плазматической мембраны, обращенную к цитоплазме. Этот цитоскелет

называют еще скелетом мембраны, т.к. он делает ее прочнее и обеспечивает единство с липидным слоем, придает внутреннюю подвижность и гибкость.

Цитоскелет эритроцита играет важную роль в его способности к деформации. Дисковидный эритроцит может легко пройти через микропорный фильтр 3 мкм, через стенку синуса селезенки.

В эритроцитах осуществляется множество ферментативных реакций. Они адсорбируют аминокислоты, липиды, токсины. Благодаря содержанию в них гемоглобина, участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия. За счет того, что мембрана эритроцитов проницаема для анионов и непроницаема для катионов и гемоглобина, они участвуют в регуляции ионного состава плазмы. Кроме того, эритроциты обладают антигенными свойствами, но основная их роль — снабжение тканей кислородом и участие в транспорте углекислоты.

#### *Клиническое значение.*

*Снижение* количества эритроцитов (эритроцитопения) является одним из основных критериев анемического синдрома. От истинной анемии необходимо отличать гидремию, связанную с увеличением объема плазмы за счет притока тканевой жидкости (например, при схождении отеков). Причинами анемий являются кровопотери, нарушения кроветворения в костном мозге (дефицит железа, фолиевой кислоты, витамина В<sub>12</sub>, апластические процессы) и повышенный гемолиз. Степень эритроцитопении варьирует и в тяжелых случаях (апластическая анемия, гемолитическая анемия в период криза, В<sub>12</sub>-дефицитная анемия) может достигать  $1 \times 10^{12}$ /л и менее. Кроме этого, уменьшение количества эритроцитов имеет место при лейкозах, множественной миеломе, неходжкинских лимфомах, системной красной волчанке, ревматоидном артрите, метастазах злокачественных опухолей и др. Уменьшение количества эритроцитов наблюдается также при недостаточном содержании белка в пище, голодании, вегетарианской диете.

*Увеличение* количества эритроцитов в единице объема крови называется полиглобулией или эритроцитозом. В физиологических условиях наблюдается у новорожденных в первые 3 дня жизни (временное сгущение крови в результате потери жидкости организмом при внезапном переходе к легочному дыханию и кожной респирации), у взрослых при усиленном потоотделении, голодании. При подъемах на большую высоту эритроцитоз обусловлен не сгущением крови, а действительным повышением продукции эритроцитов в связи с гипоксией. Эритроцитозы наблюдаются при патологических состояниях как симптомы целого ряда заболеваний (вторичные эритроцитозы). Вторичные симптоматические эритроцитозы делят на абсолютные и относительные. Причиной абсолютных полиглобулиий является реактивное усиление эритропоэза с увеличением массы циркулирующих эритроцитов (при врожденных пороках сердца, хроническом обструктивном бронхите, гипернефроидном раке, гемангиобластоме мозжечка и др.). Сгущение крови без увеличения количества эритроцитов в результате уменьшения объема плазмы при длительной рвоте, диарее, ожогах лежит в основе относительных полиглобулиий.

От симптоматических эритроцитозов следует отличать заболевания крови, относящиеся к гемобластозам (истинная полицитемия).

### **Изменения размера эритроцитов**

**Микроцитоз**— преобладание в мазках крови эритроцитов с диаметром малой величины (5,0—6,5 мкм). Этот признак наблюдается при наследственном сфероцитозе, железодефицитной анемии, талассемии и др. Эти клетки имеют уменьшенный объем и количество гемоглобина. Основным фактором является нарушение синтеза гемоглобина, что характерно для железодефицитной анемии, а также некоторых гемоглобинопатий.

**Шизоциты** — мелкие фрагменты эритроцитов, либо дегенеративно измененные клетки неправильной формы диаметром 2,0— 3,0 мкм. Они встречаются в мазках крови при микроангиопатической гемолитической анемии, васкули-

тах, гломерулонефритах, уремии, маршевой гемоглобинурии, гемоглобинопатиях, ДВС-синдроме, миелодиспластическом синдроме и других заболеваниях.

**Макроцитоз** — присутствие в мазках крови эритроцитов диаметром  $>9,0$  мкм. Этот признак выявляется у новорожденных как физиологическая особенность, а также у взрослых при макроцитарных анемиях, заболеваниях печени, дефиците витамина В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты, при анемии беременных, у больных со злокачественными опухолями, при понижении функции щитовидной железы, миелопролиферативных заболеваниях.

**Мегалоцитоз** — появление в мазках крови эритроцитов диаметром 11,0—12,0 мкм, гиперхромных, без просветления в центре, овальной формы. Обнаруживаются при анемии, обусловленной дефицитом витамина В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты, при анемии беременных, глистной инвазии, дизэритропоэзах.

**Анизоцитоз** — присутствие в мазках крови эритроцитов, различающихся по размеру: с преобладанием эритроцитов малого диаметра - микроанизоцитоз, с преобладанием эритроцитов большого размера — макроанизоцитоз. Анизоцитоз наблюдается при железодефицитной анемии как в начальном периоде заболевания, так и как вследствие проводимой терапии железом, в результате чего в крови появляются эритроциты, богатые гемоглобином, сформировавшиеся в период восстановления уровня железа в крови, одновременно циркулируют эритроциты малого размера, которые образовались до начала лечения. Анизоцитоз имеет место при заболеваниях, характеризующихся наличием нормального и патологически измененного пула эритроцитов. Так при гипопластической анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, миелопролиферативных заболеваниях, талассемии присутствуют как микроциты, так и нормоциты, а также макроциты. Анизоцитоз характерен для большинства анемий различного типа.

### **Изменения формы эритроцитов**

Изменения формы эритроцитов разной степени выраженности (**пойкило-**

**цитоз)** могут наблюдаться практически при любой анемии, вне зависимости от ее генеза. В норме незначительная часть клеток также может иметь форму, которая отличается от дисковидной.

Лишь немногие типы эритроцитов оказываются специфически характерными для конкретных патологий. Это наследственные заболевания: наследственный сфероцитоз — болезнь Минковского-Шоффара (**микросфероциты**) и серповидно-клеточная анемия (**серповидные клетки**). Остальные формы могут появляться при различных патологических состояниях. Здесь важно разграничить обратимые формы (**эхиноциты и стоматоциты**), которые еще могут быть возвращены в нормальное состояние, и необратимо измененные формы (**акантоциты, кодоциты — мишеневидные клетки, сфероциты, необратимо измененные стоматоциты**).

**Эхиноциты** — сферические клетки, на поверхности которых достаточно регулярно располагается 30—50 спикул. При этом отношение поверхности к объему остается нормальным. Трансформация дискоцит-эхиноцит в начальной стадии обратима, причем было показано, что спикулы вновь появляются на поверхности клетки каждый раз в одном и том же месте. Близость стеклянной поверхности часто вызывает образование эхиноцитов. Полагают, что этот эффект связан с локальным защелачиванием среды  $pH > 9.0$ . Изменение  $pH$  от нейтрального до щелочного и обратно вызывает обратимый переход дискоцита в сфероцит и обратно.

При суспендировании эритроцитов в изотонической среде часто происходит образование эхиноцитов. Добавление альбумина может вернуть клетки к нормальной дискоцитной форме. Эхиноциты обнаруживаются *in vivo* обычно в тех случаях, когда в клетках низко содержание АТФ или нарушен жирнокислотный состав плазмы. Если клетка долго пребывает в состоянии эхиноцита, возникает процесс потери липидного компонента мембраны, и изменения формы становятся необратимыми. Эхиноциты часто появляются как артефакт, возможно появление их при уремии совместно с акантоцитами, наследственном

дефиците пируваткиназы, фосфоглицераткиназы.

**Стоматоциты (или гидроциты)** имеют увеличенный на 20—30% объем и площадь поверхности, щелевидную форму центрального просвета (пэллора). Эти клетки образуются под действием весьма разнообразных факторов: низкого рН, не проникающих анионов, катионных детергентов, хлорпромазина, винбластина, витамина А.

**Серповидные клетки** — характерны для серповидно-клеточной анемии и других гемоглобинопатий, содержат гемоглобин S, способный полимеризоваться и деформировать мембрану, особенно при низком содержании кислорода в крови. На этом основана "проба жгута", когда для увеличения содержания этих клеток в препарате перед взятием крови на палец пациента накладывают жгут, чтобы вызвать местную гипоксию.

**Мишеневидные клетки (кодоциты)** имеют увеличенную площадь поверхности за счет избыточного содержания холестерина. Они имеют окрашенную периферию и на фоне светлой центральной части небольшой более темный сферический участок. Эти формы характерны для а- и b- талассемии, гемоглобинопатий С и S, свинцовой интоксикации и болезнью печени, в частности, длительной механической желтухи. Кодоциты особенно часто встречаются при обструктивной желтухе (по Bessis до 75%).

**Акантоциты** (поверхность клетки имеет зубчатую форму), в отличие от эхиноцитов, не способны к возврату в нормальное состояние при помещении в свежую плазму. Подобные клетки сфероидальны (не имеют пэллора), имеют от 3 до 12 спикул с булавовидными расширениями на концах. Длина и толщина спикул сильно варьируют. Объем, площадь поверхности, содержание гемоглобина обычно нормальны. Акантоциты встречаются при тяжелых формах гемолитической анемии, болезнях печени, наследственной абетаалипопротеинемии, наследственном дефиците пируваткиназы, наследственном сфероцитозе (тяжелые формы). Незначительное число акантоцитов можно наблюдать у пациентов

после спленэктомии.

**Слезовидные клетки (дакриоциты)** в отличие от акантоцитов имеют одну большую спикулу и часто содержат включение — тельце Гейнца; обычно являются микроцитами. Эти клетки особенно часто выявляются при миелофиброзе, реже при различных формах анемии.

**Стоматоциты** наблюдаются при наследственном стоматоцитозе. Причиной их появления является повышенная проницаемость мембраны для натрия и калия. После того как компенсаторное увеличение ионного транспорта оказывается уже не эффективным, цитоплазма обогащается натрием, теряет калий и гидратируется. У мишеневидных клеток также увеличена концентрация натрия и снижена концентрация калия. Большой объем стоматоцита не мешает ему достаточно долго выживать при микроциркуляции. В меньшем числе (приблизительно в 3% от общей популяции клеток) стоматоциты встречаются при obstructивных болезнях печени, алкогольном циррозе, кардиоваскулярной патологии, злокачественных опухолях. Возможно выявление стоматоцитов как артефактов.

**Ксероциты** — уплотненные дегидратированные клетки нерегулярной формы, которые характерны для наследственной болезни — семейного ксероцитоза. В физиологическом смысле эти клетки противоположны стоматоцитам и возникают при потере катионов и, следовательно, воды. Тем не менее, ксероцит иногда по форме напоминает стоматоцит (но с уплотненной, дегидратированной цитоплазмой).

**Микросфероциты** — специфические клетки для наследственного микросфероцитоза. Изменение спектрина приводит к нарушениям устойчивости мембраны. Выявление их на мазках крови иногда требует большой тщательности. Характерно, что микросфероциты в мазке выглядят как однородные, без существенного пойкилоцитоза, их количество — от 1—3 до 20—30 в поле зрения (остальные клетки нормальны, всего в поле зрения 50 клеток). Если попу-

ляция микросфероцитов разнородна, то это более характерно для гемолитической анемии. Выявляемый на препаратах микросфероцитоз, который сочетается с анизоцитозом и пойкилоцитозом также может свидетельствовать о механическом повреждении эритроцитов (синдром фрагментации эритроцитов), ожоговой болезни, дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Сфероцитоз можно рассматривать как терминальную, предгемолитическую стадию, в которую переходят эхиноциты, акантоциты и стоматоциты при необратимом повреждении.

**Эллиптоциты** в норме составляют менее 1% всех клеток. При различных анемиях (талассемия, железодефицитная и особенно мегалобластная анемии) их содержание доходит до 10%. При этом популяция эллиптоцитов неоднородна по размерам. Если эллиптоциты однородны и составляют более 25%, то это более характерно для наследственного эллиптоцитоза.

**Дегмациты (укушенные клетки)** часто содержат тельца Гейнца и наблюдаются при гемолитической анемии, вызванной отравлением окислителями. В очень тяжелых случаях отравлений на препаратах можно наблюдать полутени эритроцитов (эксцентроциты).

**Шистоциты (шлемовидные и треугольные клетки)** наблюдаются при микроангиопатии, гемолитической анемии под действием физических факторов, злокачественной гипертонии, уремии, а также в случаях осложнений при протезировании сосудов и клапанов.

### **Индексы эритроцитов**

Показатели MCV (mean corpuscular volume, средний объем эритроцита, средний корпускулярный объем), MCH (mean corpuscular hemoglobin, среднее содержание гемоглобина в эритроците), MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration, средняя корпускулярная концентрация гемоглобина), а также методы их вычисления были введены в 1929 г. Винтробом (Wintrobe, 1993).

**Средний объем эритроцита (MCV)** вычисляется путем деления гематокритной величины  $1 \text{ мм}^3$  крови на число эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  по формуле:

$$MCV = \text{ГЕМАТОКРИТ } 1 \text{ мм}^3 / \text{ЧИСЛО ЭРИТРОЦИТОВ В } 1 \text{ мм}^3$$

Результат выражают в кубических микронах ( $\text{мкм}^3$ ), или в фентолитрах (фл). На практике средний объем эритроцита вычисляют путем умножения гематокрита (%) на 10 и деления полученного произведения на число эритроцитов в миллионах в кубическом миллиметре крови:

$$MCV = \text{ГЕМАТОКРИТ}(\%) \times 10 / \text{ЧИСЛО ЭРИТРОЦИТОВ}(\text{млн. кл./мм}^3)$$

**Среднее содержание гемоглобина в эритроците (МСН)** устанавливается по формуле:

$$МСН = \text{ГЕМОГЛОБИН}(\text{г/100мл}) \times 10 / \text{ЧИСЛО ЭРИТРОЦИТОВ}(\text{млн/мкл.})$$

Результат выражают в пикограммах (пг), норма составляет 27—31 пг. Этот показатель характеризует среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците. Он аналогичен цветовому показателю, который входит в общий анализ крови и широко используется в клинике. На основе этих индексов анемии разделяют на нормо-, гипо- и гиперхромные.

**Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС)** вычисляется путем деления концентрации гемоглобина в г/100 мл на гематокрит и умножения на 100:

$$МСНС = \text{ГЕМОГЛОБИН}(\text{г/дл}) / \text{ГЕМАТОКРИТ}(\%) \times 100$$

Выражается этот индекс в г/дл. Различия между двумя последними индексами должны быть понятны. Первый показатель указывает на массу гемоглобина в среднем эритроците и выражается в долях грамма (пикограммах). Второй индекс показывает концентрацию гемоглобина в среднем эритроците, т.е. соотношение содержания гемоглобина к объему клетки. Он отражает насыщение эритроцита гемоглобином и в норме составляет 30-37 г/дл. В отличие от среднего содержания гемоглобина в эритроците (МСН) МСНС не зависит от среднего клеточного объема и является чувствительным тестом при нарушениях процессов гемоглобинообразования. Информативность МСНС при железо-

дефицитных анемиях составляет 85% (Золотницкая Р.П., 1982).

При нормохромных анемиях повышение или понижение среднего размера эритроцитов связано с соответствующим повышением или снижением массы гемоглобина, содержащегося в клетке, средняя концентрация гемоглобина (МСНС) остается нормальной. При гипохромных анемиях снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците более значительно, чем уменьшение среднего объема клеток. Поэтому МСНС субнормальна.

За исключением наследственного микросфероцитоза, в некоторых случаях серповидноклеточной анемии и гемоглобиноза С, МСНС не превышает 37%. Следовательно, предельная гиперхромия встречается очень редко. Величина 37% — практически верхний предел, насыщения эритроцита гемоглобином, и дальнейшее увеличение концентрации может закончиться кристаллизацией.

Показатель MCV является наиболее информативным для исследования и диагностики анемий. МСН и МСНС несут меньшую клиническую информацию. Взаимосвязь эритроцитарных индексов выражается формулой:

$$\text{МСН (пг)} = \text{МСНС(г/л)} \times \text{MCV(фл)} / 1000$$

Современные гематологические автоматы получают величины МСН и МСНС расчетным путем по программе, заложенной в процессор. При отсутствии автоматов эритроцитарные индексы удобно вычислять по номограмме Мазона.

### **Цветной показатель**

(ЦП) — относительная величина, характеризующая среднее содержание гемоглобина в эритроците. Формула для вычисления цветового показателя имеет вид:

$$\text{ЦП} = \text{ГЕМОГЛОБИН (г/л)} \times 3 / \text{первые 3 цифры содержания эритроцитов}$$

В норме ЦП составляет 0,86—1,05. Этот показатель имеет такую же клиническую интерпретацию, как среднее содержание гемоглобина в эритроците.

Однако цветовой показатель определяется в условных единицах, поэтому имеет отвлеченное значение.

**Показатель анизоцитоза (RDW)** характеризует неоднородность размеров эритроцитов значительно точнее, чем это можно получить при визуальной оценке мазка крови, измерении среднего диаметра эритроцитов и построении кривой Прайс-Джонса. Оценка степени анизоцитоза под микроскопом сопровождается целым рядом ошибок. При высыхании эритроцитов их диаметр уменьшается на 10—20%, в толстых мазках он меньше, чем в тонких. В отличие от морфологических методов оценки анизоцитоза автоматизированный кондуктометрический подсчет обладает более высокой точностью и воспроизводимостью результатов.

**Таблица 1**

**Использование величин RDW и MCV  
в дифференциальной диагностике анемий**

	RDW НОРМАЛЬНЫЙ	RDW ВЫСОКИЙ
MCV НИЗКИЙ	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Талассемия.</li> <li>2. Гемонрансфумия.</li> <li>3. Химиотерапия.</li> <li>4. Злокачественные новообразования.</li> <li>5. Геморрагия.</li> <li>6. Посттравматическая спленэктомия.</li> <li>7. Старческий сфероцитоз.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Дефицит железа.</li> <li>2. Бета-талассемия.</li> <li>3. Гемоглобин Н.</li> <li>4. Фрагментация эритроцитов.</li> </ol>
MCV НОРМАЛЬНЫЙ	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Норма.</li> <li>2. Хронические заболевания.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гемотрансфузия.</li> <li>2. Начальный этап железо-, В<sub>12</sub>-, или фолиеводефицитной анемии.</li> <li>3. Гомозиготная гемоглобинопатия.</li> <li>4. Миелофиброз.</li> <li>5. Сидеробластная анемия.</li> </ol>

<p style="text-align: center;">МСV ВЫСОКИЙ</p>	<p>1. Апластическая анемия. 2. Заболевания печени.</p>	<p>1. Фолиеводефицитная анемия. 2. В<sub>12</sub>- дефицитная анемия. 3. Холодовая агглютинация. 4. Гемолитическая анемия. 5. Химиотерапия.</p>
--	--	---

### ***Лейкоциты***

*Лейкоциты* являются ядросодержащими клетками крови. Они формируют в организме человека мощный кровяной и тканевой барьеры против микробной, вирусной и паразитарной (гельминтной) инфекций, поддерживают тканевой гомеостазис и регенерацию тканей.

Лейкоциты крови представлены гранулоцитами, т.е. лейкоцитами, в цитоплазме которых при окрашивании выявляется зернистость, и агранулоцитами, цитоплазма которых не содержит зернистости. К гранулоцитам относят нейтрофильные, эозинофильные и базофильные лейкоциты, а к агранулоцитам — лимфоциты и моноциты.

*Нейтрофильные лейкоциты* участвуют в уничтожении проникших в организм инфекционных агентов, тесно взаимодействуя с макрофагами, Т- и В-лимфоцитами. Нейтрофилы секретируют вещества, обладающие бактерицидными эффектами, способствуют регенерации тканей, удаляя из них поврежденные клетки, а также секретируя стимулирующие регенерацию вещества. В цитоплазме лейкоцитов содержатся многочисленные мелкие гранулы трех типов. Гранулы, дающие положительную реакцию на пероксидазу, представлены лизосомами, содержащими многочисленные ферменты: лизоцим, повреждающий клетку бактерий; катионные белки, нарушающие дыхание и рост микроорганизмов; протеазы и кислые гидролазы, позволяющие нейтрофилам легко переваривать фагоцитированные объекты.

Гранулы, не окрашивающиеся на миелопероксидазу, содержат лактоферрин, оказывающий бактериостатическое действие, транскобаламины I и III — переносчики витамина В<sub>12</sub> в крови, лизоцим. В гранулах третьего типа содер-

жаты кислые гликозаминогликаны, участвующие в процессах размножения, роста и регенерации тканей.

*Базофильные гранулоциты* крови и тканей (к последним относят и тучные клетки) выполняют множество функций: поддерживают кровоток в мелких сосудах, способствуют росту новых капилляров и трофике тканей, обеспечивают миграцию других лейкоцитов в ткани. Они способны к фагоцитозу, миграции из кровяного русла в ткани и передвижению в них. Базофильные лейкоциты участвуют в формировании аллергических реакций немедленного типа.

Цитоплазма зрелых базофилов содержит гранулы неравных размеров. Базофилы могут синтезировать и накапливать в гранулах биологически активные вещества, очищая от них ткани, а затем и секретировать их. Постоянно в клетке присутствуют: 1) кислые гликозаминогликаны — хондриотинсульфат, дермансульфат, гепарансульфат и гепарин — основной антикоагуляционный фактор; 2) гистамин — антагонист гепарина, укорачивающий время кровотечения, активатор внутрисосудистого тромбообразования. Гистамин стимулирует фагоцитоз, оказывает противовоспалительное действие на ткань. Каждый базофил содержит: 1) 1—2 пг гистамина; 2) «фактор, активирующий тромбоциты» — вещество, вызывающее агрегацию тромбоцитов и освобождение их содержимого; 3) «эозинофильный хемотаксический фактор анафилаксии», вызывающий выход эозинофилов из сосудов в места скопления базофилов. При сенсибилизации организма в базофилах образуется так называемая «медленно реагирующая субстанция анафилаксии» (лейкотриены), вызывающая спазм гладкой мускулатуры.

Базофилы оказывают свои эффекты благодаря дегрануляции, т. е. выбросу содержимого гранул во внеклеточную среду.

Базофильные гранулоциты и тучные клетки имеют общую КОЕ. Это дает основание рассматривать тучные клетки как тканевые формы базофилов.

*Эозинофильные лейкоциты.* Функции эозинофилов направлены на защиту организма от паразитарной гельминтной инфекции. Эозинофилы уменьшают концентрацию биологически активных соединений, возникающих при развитии аллергических реакций. Эозинофилы являются антагонистами тучных клеток и базофилов благодаря секреции соединений, предупреждающих длительное действие биологически активных веществ, выделяемых этими клетками. Эозинофилы обладают фагоцитарной и бактерицидной активностью. Для зрелого эозинофила характерно 2- или 3-дольчатое ядро и два типа гранул в цитоплазме. Большие гранулы содержат специфический основной белок, обладающий свойством нейтрализовывать биологически активные вещества: гепарин, медиаторы воспаления, а также ряд ферментов —  $\beta$ -гиалуронидазу, рибонуклеазу, фосфолипазу Д и др. Последняя инактивирует «фактор, активирующий тромбоциты», секретлируемый базофилами, предупреждая агрегацию тромбоцитов. Маленькие гранулы содержат кислую фосфатазу и арилсульфатазу В, нейтрализующие «медленно реагирующую анафилактическую субстанцию».

При аллергических заболеваниях эозинофилы накапливаются в тканях, участвующих в аллергических реакциях, и нейтрализуют образующиеся в ходе этих реакций биологически активные вещества, тормозят секрецию гистамина тучными клетками и базофилами. Для человека характерно накопление эозинофилов в тканях, контактирующих с внешней средой — в легких, желудочно-кишечном тракте, коже, урогенитальном тракте. Их количество в этих тканях в 100—300 раз превышает содержание в крови.

*Моноциты-макрофаги* (система фагоцитирующих макрофагов) обеспечивают фагоцитарную защиту организма против микробной инфекции. Образующиеся в макрофагах продукты метаболизма токсичны для многих паразитов человека. Макрофаги участвуют в формировании иммунного ответа организма и воспаления, усиливают регенерацию тканей и противоопухолевую защиту, участвуют в регуляции гемопоеза. Макрофаги фагоцитируют старые и поврежденные клетки крови.

Моноциты имеют диаметр от 20 до 50 мкм, при эволюции их в макрофаги увеличивается размер клеток, число лизосом и количество содержащихся в них ферментов. Способность макрофагов распознавать микроорганизмы, поврежденные клетки, медиаторы, гормоны, лимфокины и др. связана со свойствами их плазменной мембраны, рецепторы которой взаимодействуют с этими лигандами.

Макрофаги человека секретируют более 100 биологически активных веществ, например: интерлейкин I, стимулирующий пролиферацию остеобластов и лимфоцитов, эритропоэтин, простагландины, лейкотриены, тромбоксан и др. соединения, что делает возможным их участие в регуляции гемопоэза, механизмов воспаления и т.п. Моноциты-макрофаги стимулируют фактор, вызывающий некроз опухоли (кахексин), обладающий цитотоксическим и цитостатическим эффектами на опухолевые клетки. Секретируемые макрофагами интерлейкин I и кахексин воздействуют на терморегуляторные центры гипоталамуса, повышая температуру тела.

Длительность жизни лейкоцитов разнообразна и зависит от вида клеток. Полный цикл жизни гранулоцитов составляет 9—13 дней (5—6 дней они находятся в костном мозге, внутрисосудистый период — от нескольких часов до 2-х дней, остальная жизнь проходит в тканях, где и осуществляются в основном их функции). Некоторые формы лимфоцитов (сохраняющие иммунологическую память) живут 300 дней. Есть и короткоживущая фракция лимфоцитов.

Количество лейкоцитов зависит от внешних факторов: времени суток (максимум — в вечернее время), сезона, изменения климата и метеорологических условий, приема лекарственных препаратов, влияния диагностических процедур, физиологического состояния организма (возраста, пола, беременности, фазы менструального цикла, приема пищи, воздействия тепла или холода, физических нагрузок); и от патологических изменений в организме. Для того чтобы убедиться в стойкости изменений числа лейкоцитов, необходимо выполнять повторные исследования. Этот анализ целесообразно проводить не только

при наличии признаков заболевания, но и практически здоровому населению при профилактических осмотрах.

*Нормальные величины.* Количество лейкоцитов в крови колеблется в пределах 4000—8800 в 1 мкл, или  $4 - 8,8 \times 10^9$  в 1 л.

*Клиническое значение.* В основе *повышения* количества лейкоцитов (лейкоцитоза) могут лежать различные патофизиологические механизмы, связанные с увеличением продукции, повышенной мобилизацией костномозгового резерва, а также перераспределением пристеночного пула. Перераспределительный лейкоцитоз обусловлен тем, что в сосудистом русле существует два пула лейкоцитов: пристеночный, или маргинальный, и циркулирующий. В связи с этим лейкоцитоз может развиваться вследствие поступления лейкоцитов из пристеночного пула или из органов, служащих для них депо. Это часто наблюдается при различных физиологических состояниях (физиологический лейкоцитоз): физические нагрузки (миогенный лейкоцитоз); пищеварительный лейкоцитоз (через 2—3 ч после приема пищи, особенно богатой белком); беременность (особенно вторая половина); эмоциональный стресс; введение некоторых лекарственных препаратов (адреналин, кортикостероиды).

Наиболее частые причины патологического лейкоцитоза: большинство острых инфекционных заболеваний (кроме брюшного тифа, бруцеллеза и вирусных инфекций); воспалительные заболевания (крупозная пневмония, тонзиллит, экссудативный плеврит, перикардит); гнойные процессы (сепсис, рожистое воспаление, менингит, аппендицит, перитонит, эмпиема плевры); инфаркты различных органов (миокарда, селезенки, легких); обширные ожоги (лейкоцитоз вызывается всасыванием продуктов тканевого распада и присоединением вторичной инфекции); интоксикации; уремия; диабетическая кома; шок; острые кровопотери (постгеморрагический лейкоцитоз вследствие гипоксемии); гемолитический криз; почечная колика; аллергические реакции; в ряде случаев — злокачественные новообразования, особенно при распаде опухоли. Умеренный лейкоцитоз может быть при истинной полицитемии, при злокачественных

лимфо-мах с поражением костного мозга, иногда при острых лейкозах, в начальных стадиях хронических лейкозов. Значительное повышение числа лейкоцитов (более  $200 \times 10^9/\text{л}$ ) имеет место при хроническом миелолейкозе и хроническом лимфолейкозе.

*Снижение* количества лейкоцитов — лейкопения. Причины лейкопений (Алмазов В. А., 1981):

1. Недостаточность кроветворения в костном мозге (лейкопении центрального генеза) в результате гибели стволовых клеток (некоторые формы острого лейкоза, лучевая болезнь, хроническая интоксикация бензолом, метастазирование новообразований в костный мозг), жирового перерождения костного мозга (апластическая анемия) или развития соединительной ткани (хронический миелофиброз). К развитию лейкопений центрального генеза приводит воздействие ионизирующей радиации, бензола, прием некоторых лекарственных препаратов (производные пиразолона, нестероидные противовоспалительные препараты; антибиотики, особенно левомецетин; сульфаниламидные препараты, препараты золота, цитостатические средства и др.).

2. При сохраненном кроветворении может быть нарушен выход лейкоцитов из костного мозга в периферическую кровь (синдром «ленивых лейкоцитов»).

3. При сохраненном кроветворении количество лейкоцитов снижается в результате их усиленного разрушения в кровеносном русле или при увеличении пристеночного пула (перераспределительные лейкопении). К развитию периферических лейкопений приводят некоторые заболевания, протекающие со спленомегалией и синдромом гиперспленизма (хронический активный гепатит, цирроз печени, туберкулез селезенки, болезнь Гоше, синдром Фелти). Функциональные лейкопении наблюдаются при гипотонических состояниях, упадке общего тонуса, голодании. Лейкопении развиваются при вирусных и бактериальных инфекциях (брюшной тиф, грипп, малярия, бруцеллез, вирусный гепа-

тит, корь, краснуха); аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка).

### *Лейкоцитарная формула*

Лейкоцитарную формулу — процентное соотношение различных видов лейкоцитов — подсчитывают в окрашенных мазках крови. Исследование лейкоцитарной формулы имеет большое значение в диагностике большинства гематологических заболеваний для оценки тяжести состояния и эффективности проводимой терапии. Изменения лейкоцитарной формулы имеют место при целом ряде заболеваний, порой они являются неспецифическими. Например, выявление большого числа бластных форм свидетельствует об остром лейкозе. При исследовании дифференциальной формулы одним из гематологических показателей является сдвиг влево или вправо, указывающий на степень изменения функций костного мозга.

*Причины нейтрофилии* могут быть следующими:

1. Острые инфекции, локальные или генерализованные: особенно кокковые, а также вызванные определенными бациллами, грибами, спирохетами, паразитами и некоторыми вирусами.
2. Другие воспалительные реакции: повреждение тканей в результате ожогов или после операций; ишемические некрозы (инфаркт миокарда), подагра, коллагенозы, реакции гиперчувствительности и др.
3. Интоксикация:
  - метаболическая, в том числе уремия, диабетический ацидоз и эклампсия;
  - отравление химикатами или лекарствами: свинец, дигиталис, яд насекомых и чужеродные белки.
4. Острые кровотечения.
5. Злокачественные новообразования (физиологический нейтрофилез: в ходе интенсивных физических нагрузок, у новорожденных).

6. Миелолейкоз, полицитемия, миелофиброз и миелоидная метаплазия.
7. Другие причины: хроническая идиопатическая нейтрофилия, наследственная нейтрофилия.

*Увеличение числа нейтрофилов (нейтрофилез, или нейтроцитоз),* как правило, сочетается с увеличением общего числа лейкоцитов в крови. Нейтрофильный лейкоцитоз развивается вследствие увеличения продукции нейтрофилов, повышенной мобилизации костномозгового резерва или перераспределения пристеночного пула. Острые инфекционные заболевания и воспалительные процессы способствуют мобилизации костномозгового резерва и пристеночного пула нейтрофилов в периферической крови. Количество нейтрофилов при этом может увеличиваться до  $25\text{—}30 \times 10^9/\text{л}$ . Повышенная продукция нейтрофилов связана также с хроническими миелопролиферативными заболеваниями. Кортикостероиды стимулируют выведение нейтрофилов из костного мозга. Выделение адреналина при стрессовых ситуациях может привести к мобилизации пристеночного пула и удвоению количества нейтрофилов в периферической крови.

Увеличение количества сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов встречается значительно чаще, чем сегментоядерных. Могут также появляться незрелые формы гранулоцитов (миелоциты, метамиелоциты). Сдвиг лейкоцитарной формулы влево — увеличение количества незрелых нейтрофилов в периферической крови: миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов.

Степень зрелости ядер нейтрофилов определяется индексом сдвига ядер. Индекс сдвига ядер (ИС) вычисляют по формуле:

$$\frac{\text{миелоциты} + \text{метамиелоциты} + \text{палочкоядерные сегментоядерные}}{\text{сегментоядерные}}$$

В норме ИС составляет 0,06.

При острых воспалительных процессах (крупозная пневмония), сепсисе, метастазах злокачественных опухолей в костный мозг, интоксикациях, шоке, кровотечениях, инфаркте миокарда, гемолитическом кризе, туберкулезе, некоторых инфекционных заболеваниях (скарлатина, рожистое воспаление, дифтерия) довольно часто наблюдается реактивный сдвиг лейкоцитарной формулы влево — лейкомоидные реакции по миелоидному типу. Максимальной степени эти изменения достигают при миелопролиферативных заболеваниях, особенно при хроническом миелолейкозе. Резко увеличивается и общее количество лейкоцитов (до  $50\text{—}100 \times 10^9/\text{л}$  и более), в лейкоцитарной формуле в значительном количестве определяются промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты и даже бласты. Степень изменений зависит от стадии заболевания. Число зрелых нейтрофилов при этом уменьшается.

Уменьшение нормального количества палочкоядерных нейтрофилов и увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов с гиперсегментированными ядрами называют сдвигом лейкоцитарной формулы вправо. Сдвиг вправо наблюдается при  $\text{B}_{12}$ - и фолиеводефицитных анемиях, истинной полицитемии.

*Снижение числа нейтрофилов (нейтропения)* обычно сочетается с лейкопенией и наблюдается при вирусных инфекциях, хронических воспалительных заболеваниях, гемобластозах (в результате гиперплазии опухолевых клеток и редукции нормального гемопоэза), после приема некоторых лекарственных препаратов, особенно цитостатиков, и лучевой терапии. Резкое снижение количества нейтрофилов может привести к угрожающим жизни инфекционным осложнениям. Риск развития инфекции возрастает при снижении количества нейтрофилов менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , при нейтропии менее  $0,2 \times 10^9/\text{л}$  проявления воспалительного процесса, как правило, отсутствуют.

Тяжелая степень нейтропии приводит к развитию агранулоцитоза. Агранулоцитоз — клинико-гематологический синдром, характеризующийся снижением количества нейтрофильных гранулоцитов в крови менее  $0,45 \times 10^9/\text{л}$ . К развитию агранулоцитоза приводит прием некоторых медикаментов (производ-

ные пиразолона, нестероидные противовоспалительные препараты, антибиотики, особенно левомецетин, сульфо-ниламидные препараты, препараты золота, цитостатические средства); ионизирующая радиация; токсические агенты (бензол); алиментарно-токсические факторы (употребление в пищу испорченных перезимовавших злаков и др.).

*Эозинопения и анэозинофилия* наблюдаются в начальном периоде острых инфекций, при воспалительных процессах, инфаркте миокарда. Появление эозинофилов в крови в этих случаях является благоприятным прогностическим признаком.

*Причины увеличения числа эозинофилов (эозинофилии):*

1. Аллергические заболевания: бронхиальная астма, крапивница, ангионевротический отек, сенная лихорадка, некоторые случаи повышенной чувствительности к лекарственным препаратам; курение.
2. Кожные заболевания, особенно пузырчатка и кожный лишай.
3. Паразитарные инвазии, особенно тканевые паразиты (трихинеллез, эхинококкоз, шистосомоз), реже — кишечные паразиты.
4. Синдром Леффлера.
5. Легочная инфильтрация с эозинофилией ("PIE синдром").
6. Тропическая эозинофилия (в основном, филяриатоз).
7. Определенные инфекции, например, скарлатина.
8. Некоторые болезни системы крови: хронический миелолейкоз, истинная полицитемия, пернициозная анемия, болезнь Ходжкина, состояние после спленэктомии.
9. Опухолевые заболевания всех типов, особенно при метастазировании и некрозе опухоли.
10. Облучение.
11. Смешанные нарушения: узелковый периартериит, ревматоидный артрит, саркоидоз, некоторые отравления и т.д.
12. Наследственные аномалии.

### 13. Идиопатическая эозинофилия.

*Базофильный лейкоцитоз или базофилия* — это увеличение количества базофильных лейкоцитов выше нормальных значений ( $>0,18 \times 10^9$  /л, если подсчитывать общее количество лейкоцитов, а затем дифференцировать базофилы, и  $>0,1 \times 10^9$  /л при непосредственном подсчете базофилов). Концентрация базофилов увеличивается при микседеме, при гипертиреозидите, во время овуляции, на протяжении беременности и в состоянии стресса. Количество базофилов может также увеличиваться у пациентов с язвенным колитом, хроническим синуситом, оспой, ветряной оспой, после введения чужеродного белка и в некоторых случаях нефрозов. Часто базофилия появляется в связи с дефицитом железа, раком легких, анемией неизвестного генеза, ХМЛ (особенно в поздние стадии), истинной полицитемией, миелоидной метаплазией, некоторыми хроническими гемолитическими анемиями, болезнью Ходжкина, а также после спленэктомии.

Базофильная инфильтрация наблюдается в пораженных участках кожи при контактном дерматите, по-видимому, как ответ на первоначальное взаимодействие между антигеном и лимфоцитами. Таким образом, базофилы вовлекаются в некоторые типы реакций замедленной гиперчувствительности, а появляющийся IgE является основным промежуточным продуктом реакции. Местные, локализованные реакции не сопровождаются увеличением концентрации базофилов в периферической крови.

Эстрогены и антигипертиреозидные лекарства приводят к увеличению количества базофилов, тогда как кортикостероиды и АКТГ, подобно острой инфекции, рентгеновскому облучению или химиотерапии, вызывают снижение их количества.

#### ***Наследственные аномалии лейкоцитов***

*Пельгеровская аномалия* (пельгеровский семейный вариант лейкоцитов) (Кост Е.А., 1975) — это изменение крови, наследуемое по доминантному типу,

при котором нарушается процесс сегментации ядер нейтрофильных лейкоцитов: форма лейкоцита остается юной, похожей на метамиелоцит, а ядро уже «старое», созревшее. Структура ядер пельгеровских лейкоцитов грубоглыбчатая, пикнотическая. Большинство пельгеровских нейтрофилов имеет однодолевое, несегментированное ядро, по форме сходное с палочкоядерными клетками, что приводит к лабораторным ошибкам и гипердиагностике палочкоядерного сдвига. Ядро пельгеровских лейкоцитов может быть в виде эллипса, окружности, боба или почки, но короче, чем у обычных нейтрофилов. Реже встречаются ядра с намечающейся перетяжкой посередине, напоминающие по форме гимнастическую гирию или земляной орех. Пельгеровские особенности — короткие перемычки и комковатое строение ядра. Встречаются двусегментированные ядра, трехсегментированные ядра почти не встречаются. Могут быть нейтрофилы с круглыми ядрами, напоминающими по форме миелоциты.

В базофилах, эозинофилах, моноцитах и лимфоцитах описанные выше изменения при пельгеровской аномалии встречаются реже и менее выражены.

По способности к фагоцитозу, содержанию ферментов, длительности жизни пельгеровские нейтрофилы не отличаются от нормальных зрелых нейтрофилов.

Изменения нейтрофилов, сходные с пельгеровской аномалией, могут возникнуть и как вторичное явление (псевдопельгеровская аномалия) при некоторых заболеваниях — острые кишечные инфекции, агранулоцитоз, лейкозы. Такие изменения носят временный, преходящий характер. После выздоровления больного псевдопельгеровские лейкоциты исчезают.

Для уточнения диагноза пельгеровской аномалии необходимо исследовать кровь родителей пациента, что позволит избежать гипердиагностики сдвига лейкоцитарной формулы влево.

### **Принципы работы гематологических анализаторов**

Наибольшее распространение получили приборы, подсчет клеток в кото-

рых основан на кондуктометрическом способе, который получил также название метода Култера. На более сложных приборах применяются оптические и радиочастотные детекторы.

Кондуктометрические приборы считают клетки путем пропускания их суспензии через отверстие малого диаметра (апертуру) и определения значений электрического сопротивления, вызванных прохождением клеток. Пропуская через апертуру строго определенное количество суспензии и регистрируя число импульсов, осуществляется подсчет клеток, а анализ амплитуды импульсов позволяет оценить размеры микрообъектов.

Кондуктометрический тип счетчиков приспособлен для точного подсчета эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Для подсчета эритроцитов пробу крови разбавляют в изотоническом растворе. Поскольку в норме число эритроцитов значительно превышает количество лейкоцитов, наличие последних в растворе обычно не влияет на результат исследования.

Для подсчета лейкоцитов необходимо лизировать эритроциты. Слишком высокое содержание клеток в растворе может привести к тому, что две частицы или более будут проходить через апертуру одновременно. Этот источник ошибок может быть скорректирован использованием большого количества растворителя на одну пробу или электронным путем.

Подсчет тромбоцитов проводят после седиментации эритроцитов или, на более новых моделях приборов, одновременно с подсчетом эритроцитов.

Кондуктометрические счетчики обладают возможностями не только подсчитывать клетки, но также измерять их объем. Зная средний объем эритроцита и содержание этих клеток в крови, легко вычислить гематокрит. На таких приборах можно определять до 18 параметров крови:

1. RBC - количество эритроцитов,
2. HGB - гемоглобин,
3. HCT - гематокрит,

4. MCV - средний корпускулярный объем эритроцита ,
5. RDV - ширина распределения эритроцитов по объему,
6. MCH - среднее содержание гемоглобина в эритроците,
7. MCHC - средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах,
8. WBC - количество лейкоцитов,
9. GRA - гранулоциты, % и содержание в  $10^3$  кл/мм<sup>3</sup>,
10. LYC - лимфоциты, % и содержание в  $10^3$  кл/мм<sup>3</sup>,
11. MON - моноциты, % и содержание в  $10^3$  кл/мм<sup>3</sup>,
12. PLT - количество тромбоцитов,
13. MPV - средний объем тромбоцитов,
14. PDW - ширина распределения тромбоцитов по объему,
15. PCT - тромбокрит.

Кроме того, прибор, регистрирующий 3 гистограммы распределения клеток по объему (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты). С появлением анализаторов крови, регистрирующих множество параметров, интерпритация результатов анализа крови претерпела некоторые изменения. Некоторые из новых параметров, хотя и были приняты и исполняются на практике, до сих пор не имеют надежной шкалы показателей нормы.

### **Диагностика анемий**

Квалифицированная интерпретация полученных результатов позволяет диагностировать и определить характер анемии, ориентировать врача на проведение дополнительных исследований, таких как определение сывороточного железа, ферритина, витамина В<sub>12</sub>. Это очень актуально, учитывая, что распространенность железодефицитных состояний у женщин детородного возраста и детей в некоторых регионах России достигает 30-60% , а по данным ВОЗ число лиц с дефицитом железа в мире составляет 500 - 600 млн. человек (Lechner K./Gadner H., 1993).

Железо относится к разряду так называемых облигатных биометаллов и

является необходимым биохимическим компонентом в процессах транспорта кислорода и тканевого дыхания, роста и пролиферации клеток, в обеспечении иммунологической резистентности организма. Известно существование двух форм дефицита железа: латентного (дефицит железа без анемии) и **железодефицитной анемии (ЖДА)**. Обе формы являются причиной снижения трудоспособности у взрослых, повышения восприимчивости к острым респираторным вирусным инфекциям у детей, вызывают задержку их роста и развития. В соответствии с этим важное значение имеет своевременная диагностика ЖДА, мониторинг в процессе лечения и профилактика железодефицита у населения, особенно у беременных женщин. Для оценки состояния метаболизма железа в клинической практике наиболее часто используются такие показатели, как содержание сывороточного железа, общей железосвязывающей способности, насыщение трансферрина железом и содержание ферритина в сыворотке крови. В зависимости от формы железодефицита и стадии железодефицитной анемии эти показатели, также как и гематологические параметры, могут быть различными. Преимуществом автоматического анализа крови является возможность получения не только количественных показателей, но и данных о распределении клеток по объему в виде гистограмм.

В начальной стадии ЖДА количество эритроцитов находится в пределах нормы, а содержание гемоглобина может быть на нижней границе нормы или сниженным, что отражает нормальную пролиферативную активность костного мозга в ответ на недостаток железа в организме. По данным, полученным С.А. Луговской и соавт. (1996) на гематологическом счетчике Система 9000. (Sego), это сопровождается незначительным уменьшением MCV при нормальном RDW, что свидетельствует о преобладании однородных клеток с малым объемом. Эритроцитарная гистограмма имеет обычную форму и лишь смещается влево. По мере дальнейшего нарушения процессов гемоглобинообразования происходит еще большее снижение MCV, MCH, MCHC, увеличение RDW. Эритроцитарная гистограмма приобретает вид одиночного широкого пика, зна-

чительно сдвинутого влево, а на тромбоцитарной гистограмме появляется второй пик в области 30—38 фл, соответствующий микроэритроцитам.

На фоне лечения ЖДА препаратами железа происходит нормализация HGB, MCH, MCHC, однако RDW остается увеличенным. Эритроцитарная гистограмма характеризуется широким основанием за счет разнородности эритроцитов по объему. Изменения гематологических показателей коррелируют со снижением сывороточного железа, насыщением трансферрина сыворотки, повышением общей железосвязывающей способности и сниженным сывороточным ферритином. Вместе с тем, латентный дефицит железа характерными изменениями со стороны эритроцитов не проявляется и может быть диагностирован только на основании результатов исследований параметров метаболизма железа.

Помимо железодефицитной анемии, эритроцитарная гистограмма с двумя пиками эритроцитов между 50 и 140 фл, указывающих на присутствие гетерогенной популяции клеток, может наблюдаться после гемотрансфузий.

При  **$V_{12}$ -дефицитной анемии** в результате замедления процессов синтеза ДНК и деления клеток образуется популяция эритроцитов с резко увеличенным объемом. Эритроцитарная гистограмма растянута, смещена вправо в зону макроцитов, чему соответствует повышение RDW и MCV при низких показателях RBC, HGB, HCT, высоком MCH и нормальной MCHC. Диагноз  $V_{12}$ -дефицитной анемии подтверждается исследованием миелограммы, определением в сыворотке крови концентрации витамина  $V_{12}$  или фолиевой кислоты. Имеет значение морфологическое исследование периферической крови (макроцитоз, гиперхромия, тельца Жолли, базофильная пунктация эритроцитов, гиперсегментация нейтрофилов).

При хронической почечной недостаточности анемия, в патогенезе которой лежит нарушение синтеза эритропоэтина, часто имеет нормохромный, нормоцитарный характер с нерезко выраженным анизоцитозом. Подобные из-

менения могут наблюдаться при острых кровопотерях, гемолизе, на фоне химиотерапии.

При **рефрактерной сидеробластной анемии** на фоне нормохромной нормоцитарной анемии отмечается резкое увеличение RDW, что отражается в растянутой с широким основанием эритроцитарной гистограмме. При исследовании окрашенного мазка наблюдается выраженный смешанный анизоцитоз за счет присутствия микроцитов, макроцитов, мегалоцитов, овалоцитов, мишеневидных эритроцитов, шизоцитов. Диагноз подтверждается исследованием пунктата костного мозга с цитохимической окраской на сидеробласты. Таким образом, автоматизированный анализ крови солевых с различными видами анемий должен дополняться морфологическим исследованием мазков крови, а затем необходимыми биохимическими, иммунологическими методами исследования.

При **эритремии** на фоне повышенного содержания эритроцитов, гемоглобина и гематокрита отмечаются изменения со стороны эритроцитарных индексов, сходные с железодефицитной анемией, т.е. снижение MCV, MCH, MCHC и увеличение RDW, а эритроцитарная гистограмма смещена в зону микроэритроцитов. Поскольку основным методом лечения этих больных является кровопускание, многократные потери крови ведут к развитию дефицита железа в организме. В связи с этим актуальным является ранняя диагностика развития этого состояния, что и позволяет осуществить автоматизированный анализ крови.

По данным зарубежных авторов, в большинстве случаев железодефицитной анемии RDW становится выше нормы раньше, чем изменяются остальные параметры (MCV и гемоглобин). Предлагается изолированное снижение RDW расценивать в качестве раннего предположительного признака развития дефицита железа (Бессман Дж.Д., 1989; Wintrobe М.М., 1993). Кроме того, этот показатель может оказывать помощь при дифференциальной диагностике микроцитарных анемий. Так, у пациентов с малой  $\beta$ -талассемией отмечается низкий

MCV, а показатель RDW обычно нормален, тогда как при дефиците железа MCV — низкий, а RDW — высокий.

Использование современных гематологических счетчиков позволяет быстро, с более высокой точностью и воспроизводимостью, чем при мануальных методах, оценить состояние кроветворной системы, определить направление дальнейшего исследования, оценить динамику изменений красной крови в процессе проводимой терапии. Пока рано говорить, какое место будет занимать новая аппаратная технология в диагностической гематологии, но, вероятно, она вытеснит или дополнит многие аспекты традиционного исследования мазка крови.

### **Диагностика острых лейкозов.**

Острые лейкозы — опухолевое заболевание гемопоетической системы, при котором лейкемические изменения происходят на уровне коммитированной уни- или бипотентной костномозговой клетки-предшественницы. В зависимости от того, предшественник какого ряда гемопоэза подвергается опухолевой трансформации, наблюдаются различия в особенностях гематологической картины, клиническом течении и прогнозе у больных острым лейкозом.

Диагностика острых лейкозов включает исследование периферической крови, костного мозга и в отдельных случаях проведение трепанобиопсии. Определение варианта острых лейкозов базируется на данных комплексного исследования бластных клеток костного мозга и крови. Все лейкозы делятся на две большие группы: острые миелоидные или нелимфобластные (ОНЛЛ) или острые лимфобластные (ОЛЛ) лейкозы.

Анемия, тромбоцитопения и нейтропения в крови — характерные признаки, выявляющиеся у большинства больных при постановке диагноза.

Степень снижения показателей красной крови (эритроцитов, ретикулоцитов и содержания гемоглобина) у больных значительно колеблется. Анемия у большинства больных носит нормохромный, нормоцитарный характер. Содер-

жание гемоглобина в одном эритроците (МСН) сохраняется в пределах нормальных колебаний (27—31 пг), так же как концентрация гемоглобина — МСНС (0,33— 0,37 г/дл) и объем эритроцитов (80—96 фл). Однако если у больного наблюдается кровоточивость, то можно констатировать наличие дефицита железа и гипохромию эритроцитов. Анемия сильнее выражена при ОНЛЛ, чем при ОЛЛ. Самые низкие показатели содержания гемоглобина (до 50 г/л) и количества эритроцитов (до  $1,0 \cdot 10^{12}$  /л) наблюдаются при эритромиелозе. У этих больных отмечаются макроцитоз эритроцитов и нормоцитоз в периферической крови.

Тромбоцитопения определяется у подавляющего большинства больных. Самые низкие показатели тромбоцитов отмечаются при остром промиелоцитарном лейкозе (до  $10—15 \cdot 10^9$ /л). Однако в 1—2% случаев при ОНЛЛ отмечается тромбоцитоз в периферической крови (более  $400 \cdot 10^9$ /л), иногда сочетающийся с мегакариоцитозом в костном мозге. Подобная картина чаще всего наблюдается у больных ОНЛЛ с нарушениями 3, 5 и/или 7 хромосом.

Количество лейкоцитов в периферической крови больных острым лейкозом может колебаться в очень широких пределах — от  $1 \cdot 10^9$ /л до  $200 \cdot 10^9$ /л.

В гемограмме в большинстве случаев выявляются бластные клетки. Их число широко варьирует (1—95%) у разных больных. Однако следует иметь в виду, что в отдельных случаях в момент постановки диагноза бласты в крови могут не обнаруживаться.

Пунктат костного мозга обычно содержит достаточное количество ядро-содержащих элементов ( $30—400 \cdot 10^9$ /л миелокариоцитов). В редких случаях отмечается низкая клеточность. Обычно гипоклеточный костный мозг в сочетании с лейкопенией наблюдается при промиелоцитарном лейкозе. Число мегакариоцитов в костном мозге у большинства больных снижено, или они отсутствуют.

В миелограмме определяются увеличение числа бластных клеток и сужение нормальных ростков гемопоэза. Содержание бластных клеток в костном мозге является величиной, на основании которой проводится дифференциальная диагностика между острым лейкозом и миелодиспластическим синдромом (МДС). При количестве бластных клеток более 30% констатируется острый лейкоз, менее 30% — МДС.

Трепанобиопсия костного мозга проводится тем больным, у которых содержание миелокариоцитов в костном мозге чрезвычайно низко и подсчет миелограммы в скудных препаратах затруднителен. Исследование трепаната позволяет получить точное представление о клеточности костного мозга и о количестве мегакариоцитов. Подобные ситуации встречаются крайне редко. Диагностика вариантов острых лейкозов имеет решающее значение для выбора терапии и определения прогноза заболевания. Основой современного разделения острых лейкозов на варианты послужила классификация, предложенная в 1976 г. группой французских, американских и британских гематологов. Она получила название ФАБ-классификации. Классификация базировалась на морфологических и цитохимических параметрах характеристики бластных клеток костного мозга и крови.

В период 80-х годов в диагностике острых лейкозов важное значение приобрело иммунофенотипирование бластов. С помощью гибридной техники была получена широкая панель моноклональных антител (МКА), которые позволили выявить признаки дифференцировки клеток, не обнаруживаемые при исследовании морфоцитохимическими методами. Использование иммунологических подходов сыграло ведущую роль в диагностике отдельных вариантов ОНЛЛ (эритроидного, мегакариоцитарного) и характеристике всех типов бластов при В- и Т-линейных ОЛЛ.

В тот же период с помощью цитогенетических исследований были выявлены закономерные изменения кариотипа бластов при разных вариантах ост-

рых лейкозов. Полученные данные оказались важными как для уточнения диагностики варианта лейкоза, так и для прогноза заболевания.

Накопленные сведения позволили установить, что в настоящее время при диагностике вариантов острых лейкозов необходимо использовать данные морфоцитохимического, иммунологического и цитогенетического исследования бластных элементов. Такой комплексный подход способствует значительному повышению эффективности современных схем терапии больных острым лейкозом.

### **Диагностика хронических лейкозов.**

Хронические лейкозы (ХЛ) представляют собой группу опухолей кроветворной ткани, возникающих вследствие опухолевой трансформации стволовых полипотентных клеток или коммитированных клеток-предшественников. ХЛ подразделяют на две подгруппы миелоидные и лимфоидные (миело- и лимфопролиферативные заболевания). Наиболее частой формой миелоидных опухолей является хронический миелолейкоз, при котором все клеточные линии принадлежат к опухолевому клону. Клеточные элементы при хронических миелоидных лейкозах долгое время сохраняют способность к дифференцировке и созреванию.

Течение хронических лейкозов характеризуется прогрессированием лейкоэмического процесса, которому сопутствует неизбежное накопление клеточной массы опухоли в костном мозге и периферической крови. Постепенное увеличение количества опухолевых элементов костного мозга приводит к вытеснению элементов нормального кроветворения, которое сначала носит относительный, а затем приобретает абсолютный характер, к замене жирового костного мозга на активный лейкозный (опухолевый). Этим изменениям гемопоэза, как правило, сопутствуют клинические симптомы, свойственные лейкозам, такие как анемия, инфекционные осложнения, геморрагический синдром. Завершается лейкоз чаще развитием бластного криза либо гематосаркомы. Все фор-

мы хронических лейкозов сопровождаются недостаточностью костномозгового кроветворения.

**Хронический миелолейкоз.** Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — опухоль миелоидной ткани. Морфологический субстрат опухоли составляют преимущественно созревающие и зрелые гранулоциты. ХМЛ встречается обычно в возрасте 20—60 лет, реже в старческом и совсем редко у детей до 10 лет, с одинаковой частотой у мужчин и женщин.

**Патогенез.** ХМЛ развивается в результате злокачественной трансформации стволовой кроветворной клетки, сохраняющей способность к дифференцировке и созреванию до зрелых клеточных элементов. Хромосомным маркером опухолевого клона при ХМЛ является филадельфийская хромосома (Ph-хромосома). Патологическая хромосома образуется в результате транслокации  $t(9,22)$ . При этом происходит перенос протоонкогена *c-abl* из обычного положения на 9-й хромосоме в расположение гена *bcr* на 22-й хромосоме в результате образуется химерный ген *bcr/abl*. Белок, продукт этого химерного гена, функционирует как тирозинкиназа, идентичная продукту гена *c-abl*, но с повышенной ферментативной активностью. Аномальная хромосома обнаруживается почти во всех клетках миелопоэза (до 88%) и в В-лимфоцитах, поэтому все потомство — гранулоциты, моноциты, эритрокарициты и мегакарициты — принадлежит к опухолевому клону. Это объясняет разнообразие клеточных вариантов бластной трансформации. До 95% случаев ХМЛ — Ph-позитивные и лишь 5—8% наблюдений регистрируются как Ph-негативные. Ph-хромосома выявляется в большей части клеток миелоидной ткани костного мозга с момента развития болезни, как при прогрессировании лейкоза, так и в период ремиссии.

Для ХМЛ свойственно первичное поражение костного мозга с постепенным нарастанием опухолевой массы, которое сопровождается увеличением количества лейкозных миелокарицитов, замещением жирового костного мозга и инфильтрацией лейкозными клетками органов и тканей.

Вытеснение нормальных ростков кроветворения неэффективный эритропоэз, появление аутоантител к эритрокариоцитам и тромбоцитам приводят к развитию анемии и тромбоцитопении. В ряде случаев гиперлейкоцитоз вызывает лейкостазы в сосудах с нарушением мозгового кровообращения либо развитием ДВС синдрома и сопутствующей кровоточивости. Большая опухолевая масса, особенно в период цитостатической терапии, сопровождается распадом клеток вследствие чего в крови (моче) повышается уровень мочевой кислоты и уратов. Инфильтрация опухолевыми клетками селезенки сопровождается быстрым увеличением ее размеров что способствует развитию тяжелых осложнений.

По мере прогрессирования заболевания в опухолевом клоне возникают дополнительные мутации, которые приводят к развитию новых субклонов, обладающих высокой пролиферативной активностью. Появление их указывает на клональную эволюцию заболевания, переход его в терминальную стадию. Опухолевые клетки теряют способность к созреванию. Блок в дифференцировке происходит на стадии бластных клеток (миелобластов, В-лимфобластов, эритробластов, мегакариобластов).

**Клиника.** В течении ХМЛ можно условно выделить 3 стадии (периода): начальную с незначительными гематологическими признаками, развернутую с выраженной клинико-гематологической симптоматикой и терминальную стадию, характеризующуюся прогрессированием дистрофических изменений.

*Начальная стадия.* Заболевание чаще развивается постепенно, исподволь и первоначально может клинически ничем не проявляться либо наблюдается потливость, слабость, повышенная утомляемость. Иногда отмечаются "летучие" боли в суставах или тяжесть в левом подреберье в связи с увеличением селезенки. Течение болезни, особенно в отсутствие цитостатической терапии, может быть как медленным, так и прогрессирующим в зависимости от скорости роста опухоли, а также от степени сохранности нормального кроветворения.

Ведущее место среди клинических симптомов занимает спленомегалия как следствие миелоидной метаплазии (инфильтрации) селезенки.

*Развернутая стадия ХМЛ* характеризуется прогрессированием болезни увеличиваются размеры селезенки, позже печени, иногда лимфатических узлов, нарастает выраженность астенического синдрома. Спустя 1—1,5 года развивается анемия, могут присоединяться интеркуррентные заболевания, например пневмония, при прогрессировании процесса может возникнуть ДВС-синдром. Возможна гиперурикемия и гиперурикозурия. Лейкозная инфильтрация может наблюдаться в любом органе, в частности в легком, коже (лейкемиды) и др.

*Терминальная стадия ХМЛ* характеризуется внезапным появлением новых проявлений болезни в виде быстрого увеличения размеров селезенки, приводящего к перисплениту или инфаркту, болей в костях, лихорадки, резкой потливости, слюнотечения, увеличения лимфатических узлов (с трансформацией в гематосаркому). Нарастают интоксикация и дистрофические изменения в органах, кахексия.

**Лабораторная диагностика.** Костный мозг при ХМЛ вначале заболевания гиперклеточный, соотношение лейко/эритро может достигать 10:1 (норма 3—4:1) при нормальном или относительном снижении количества эритрокариоцитов. Увеличение миелокариоцитов происходит главным образом за счет незрелых и зрелых форм гранулоцитов. Количество бластных клеток не превышает 5%. Изредка в начальной стадии заболевания обнаруживается эритробластоз костного мозга достигая 30—50% всех миелокариоцитов. Эритрокариоциты при этом характеризуются выраженными морфологическими аномалиями и повышенным содержанием ШИК-положительного вещества, что свидетельствует о развитии неэффективного эритропоэза. Наличие эритробластоза в костном мозге дает некоторым авторам основание выделять эритроидный вариант ХМЛ.

В начале заболевания приблизительно у 1/3 больных ХМЛ наблюдается гиперплазия мегакариоцитов костного мозга с относительно невысоким тромбоцитозом крови.

В начальной стадии заболевание чаще сопровождается сублейкемическим нейтрофильным лейкоцитозом со сдвигом до миелоцитов. При тщательном просмотре могут обнаруживаться единичные бласты. Частым симптомом является увеличение количества базофилов и/или эозинофилов. Эритроцитопения и снижение уровня гемоглобина в начальной стадии, как правило, не наблюдаются. Обычно в этой стадии ХМЛ количество тромбоцитов в крови нормальное. Однако приблизительно у 30% больных может отмечаться тромбоцитоз, который иногда достигает 1,5 млн/мкл. Редко ХМЛ дебютирует с бластным кризом.

В *развернутой стадии ХМЛ* костный мозг гиперклеточный, соотношение лейко/эритро достигает 20:1 и более в результате увеличения количества гранулоцитов. Число незрелых форм увеличивается, что постепенно сопровождается уменьшением содержания зрелых гранулоцитов и свидетельствует о нарушении клеточного созревания. По мере развития заболевания уменьшается количество эритрокариоцитов, абсолютное их уменьшение приводит к анемии. Содержание мегакариоцитов чаще бывает нормальное. Однако в тех случаях, когда в начале заболевания в костном мозге имел место гипермегакариоцитоз, последний может сохраняться довольно продолжительное время. Иногда в развернутой стадии лейкоза отмечается уменьшение количества мегакариоцитов.

Основные показатели гемограммы в динамике развития лейкоза характеризуются нарастающим лейкоцитозом, увеличением незрелых и уменьшением числа зрелых гранулоцитов в основном за счет сегментоядерных нейтрофилов, увеличением количества эозинофилов и/или базофилов. Значительное их увеличение наблюдается редко. Количество бластных клеток может варьировать от 5 до 10%.

Лейкозные гранулоциты характеризуются аномальными морфологическими признаками, свойственными опухолевым клеткам: анизоцитозом, полиморфизмом, особенно миелоцитов и метамиелоцитов, атипичными формами. Почти постоянным признаком является нарушение гранулогенеза: в клетках обнаруживаются грубая грануляция, снижение специфической зернистости, иногда последняя отсутствует. Довольно частый признак — асинхронное созревание ядра и цитоплазмы, которое проявляется базофилией цитоплазмы, возникают дистрофические изменения в клетках (вакуолизация ядра и цитоплазмы). Отмечается полиморфизм ядер (анизоцитоз, анизохромия, увеличение площади ядра, дегенеративные изменения ядер — гипосегментация (по типу аномалии Пельгера) или гиперсегментация.

Цитохимические особенности лейкозных нейтрофилов: низкие показатели активности щелочной фосфатазы и миелопероксидазы, ШИК-положительной реакции и концен трации липидов.

Анемия при ХМЛ в отсутствие кровотечения носит нормо- или гиперхромный характер и чаще развивается на 8 — 12 м месяце болезни. В случае развития в более ранние сроки нельзя исключить аутоиммунное ее происхождение. Развитие метапластической анемии и недостаточности костномозгового кроветворения сопровождается снижением уровня гемоглобина (менее 110 г/л). В мазках крови обнаруживается анизоцитоз и макроцитоз эритроцитов, встречаются единичные ядродержащие эритроциты. Количество ретикулоцитов нормальное или пониженное.

По мере течения болезни количество тромбоцитов по степенно уменьшается (менее  $100,0 \cdot 10^9/\text{л}$ ), но тромбоцитопения в развернутой стадии наблюдается редко при появлении в крови аутоантител к тромбоцитам (аутоиммунная тромбоцитопения). Патология тромбоцитов характеризуется анизоцитозом (макро, микро, гигантскими) и уродливыми формами (пойкилоцитоз), нарушением гранулогенеза. В мазках обнаруживается выраженная агрегация тромбоцитов, встречаются фрагменты ядер мегакариоцитов.

*Обострение ХМЛ (стадия акселерации)* характеризуется появлением предвестников бластного криза, симптомов, указывающих на прогрессию лейкоза. В клинической картине отмечается ухудшение общего состояния больных, появление лихорадки, увеличение размеров селезенки, печени, развитие экстрамедуллярных очагов кроветворения, например в лимфатических узлах.

В крови обнаруживается увеличение количества лейкоцитов, снижение уровня гемоглобина, содержания эритроцитов и тромбоцитов, резкое увеличение незрелых форм гранулоцитов и бластов, снижение зрелых нейтрофилов. Возможно увеличение содержания эозинофилов и базофилов, в том числе незрелых клеток этого ряда. Наблюдаются признаки дисгранулоцитопоза.

Костный мозг гиперклеточный, с выраженными морфологическими признаками дисгранулоцитопоза, дисэритропоза, количество бластных клеток достигает 15—30%.

В *терминальной стадии* наиболее часто развивается бластный криз который характеризуется нарастанием количества бластных клеток в костном мозге и крови (более 30%). Содержание бластов в костном мозге может варьировать от 15 до 99% соответственно резко снижается количество элементов грануло-, эритро- и тромбоцитопоза. Этим изменениям сопутствуют анемия, тромбоцитопения и нейтропения. Бластный криз, клеточный субстрат которого отличается полиморфизмом, характеризуется нарушением дифференцировки клеток, появлением разных форм бластов имеющих признаки морфологической и химической анаплазии: анизоцитоз выраженный полиморфизм размеров и формы ядер клеток, появление уродливых форм, фрагментация и сегментация ядер.

В редких случаях в терминальной стадии возможна бластная трансформация по типу гематосаркомы в лимфатических узлах и селезенке.

Для идентификации бластных клеток и/или для суждения о гетеро- или гомогенности клеточной популяции используются дополнительные цитохимические методы и иммунофенотипирование опухолевых клеток.

*Эозинофильный вариант* миелолейкоза характеризуется преобладанием преимущественно зрелых эозинофилов при отсутствии или малом количестве незрелых форм. Однако иногда возможно большое число эозинофильных миелоцитов.

*Базофильный вариант* миелолейкоза определяется преобладанием базофилов в клеточном субстрате.

*Rh-негативный вариант* ХМЛ составляет 5—8% всех случаев ХМЛ. Характеризуется быстрым развитием выраженным фиброзом в костном мозге и тенденцией к анемии и тромбоцитопении.

Клиническая картина представлена менее выраженной спленомегалией, чем при Rh- позитивном ХМЛ, отличается неблагоприятным течением.

Костный мозг при Rh-негативном варианте ХМЛ гиперклеточный, увеличено содержание бластных клеток (до 30%), незрелых гранулоцитов, эозинофилов, базофилов, моноцитов. Количество мегакариоцитов у 30% больных снижено.

В периферической крови отмечается умеренный лейкоцитоз с увеличением количества зрелых и незрелых форм нейтрофилов. Эозинофилия и базофилия встречаются реже, а моноцитоз — чаще, чем при Rh-позитивном ХМЛ.

Исходы ХМЛ: наиболее часто болезнь завершается бластным кризом, миелофиброзом либо гематосаркомой.

**Сублейкемический миелоз.** Сублейкемический миелоз (миелофиброз, остеомиелофиброз) — опухоль миелоидной ткани в основе которой лежит трехростковая пролиферация миелоидных элементов и соединительной ткани. При миелофиброзе опухолевая трансформация происходит на уровне стволовой кроветворной клетки или клетки предшественницы миелопоэза.

Вариабельность патоморфологических изменений болезни привела к множеству ее названий — до 47 (И. А. Кассирский). Однако, исходя из клинико-гематологической и патоморфологической ее сущности эту болезнь правильнее всего классифицировать как хронический сублейкемический миелоз,

хотя длительное время (с 1914 г.) существовал термин алейкемический миелоз (Hirchfeld).

Морфологический субстрат заболевания составляют клетки грануло-, эритро-, тромбоцитопоза.

**Патогенез.** Заболевание характеризуется нарушением костномозгового кроветворения которое проявляется гиперплазией миелокариоцитов, замещением жирового костного мозга и появлением неоднородных очагов фиброза. Развитие миелофиброза происходит в различных костях скелета и распространяется на все кости. Возможна редукция гемопоэза в плоских костях. В трубчатых костях, селезенке и печени кроветворение может наблюдаться в разном объеме. Опухолевая пролиферация касается преимущественно гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков кроветворения, что сопровождается развитием лейкоцитоза и тромбоцитоза. Анемия при миелофиброзе является следствием неэффективного эритропоэза, аутоиммунного гемолиза эритроцитов, редукции эритропоэза или недостаточности костномозгового кроветворения. Иногда отмечается активация эритропоэза.

В костном мозге наряду с выраженной клеточной гиперплазией наблюдается пролиферация фибробластов, ретикулярных клеток и волокон. По мере развития болезни количество фиброзной ткани увеличивается с последующим превращением ее в склеротические тяжи. В местах сохранного костномозгового кроветворения имеются очаги клеточной пролиферации с резким увеличением количества мегакариоцитов. Степень фиброза варьирует, он может иметь очаговый или диффузный характер. При развитии интенсивного фиброза в костном мозге уменьшается количество миелокариоцитов, фиброзная ткань заполняет межбалочные пространства.

Патогенетические механизмы развития фиброза при сублейкемическом миелозе достаточно сложны. Его возникновение связывают с воздействием факторов роста секретлируемых мегакариоцитами и тромбоцитами (PDGF, TGF), которые вызывают пролиферацию фибробластов костного мозга и синтез

ими коллагена. Кроме того мегакариоциты продуцируют IV фактор, ингибирующий активность коллагеназы, тем самым способствуя накоплению коллагена и развитию фиброза. Рассматриваются также аутоиммунные механизмы формирования фиброза в костном мозге. Молекулярно-генетическими исследованиями доказана неопухолевая природа фибробластов костного мозга.

Сублейкемический (алейкемический) характер лейкоза объясняют нарушением координации между костной и кроветворной тканью и элиминации лейкоцитов на периферию вследствие развития фиброза.

Помимо лейкозной трансформации кроветворной ткани, заболевание характеризуется наличием лейкозной инфильтрации в других органах и в первую очередь в селезенке, а также в лимфатических узлах и печени, дисплазией костной ткани в виде патологического костеобразования. Увеличение кроветворных органов происходит не только в результате миелоидной метаплазии, но и вследствие разрастания в них фиброзной ткани.

**Клиника.** Заболевание встречается чаще в пожилом возрасте. Сублейкемический миелоз проходит те же стадии развития, что и ХМЛ. Преобладает доброкачественное многолетнее течение болезни с медленным увеличением размеров селезенки.

*Основные симптомы болезни:*

- спленомегалия при сублейкемической (алейкемической) картине крови;
- миелофиброз или остеомиелофиброз костного мозга;
- миелоидная метаплазия селезенки, печени, редко лимфатических узлов;

*Начальная стадия* отличается скудностью симптомов, из которых наиболее частым и ранним является спленомегалия, возникающая в результате трехростковой миелоидной метаплазии.

*Развернутая стадия.* Прогрессирование заболевания сопровождается увеличением количества лейкоцитов, размеров селезенки, последние могут быть значительными. Обычно в процесс метаплазии помимо селезенки вовле-

кается печень, что приводит к гепатомегалии у 40% больных. Очаги экстрамедуллярного кроветворения обнаруживаются в различных органах.

Развитие анемии является следствием недостаточности костномозгового кроветворения. Тромбоцитопения приводит к появлению геморрагического синдрома в виде кровотечений, чаще в желудочно-кишечный тракт. Возможно присоединение интеркуррентных инфекций вирусной и бактериальной этиологии. При миелофиброзе описаны различные аутоиммунные заболевания, в том числе аутоиммунная гемолитическая анемия. Заболевание может осложниться развитием тромбозов, ДВС синдрома.

*Костный мозг.* В зависимости от преобладания одно-, двух- или трехросткового поражения кроветворения и миелофиброза в костном мозге наблюдается большая вариабельность изменений гематологических показателей. Возможна первичная пролиферация мегакариоцитарного ростка, нередко гиперплазия трех ростков — панмиелоз.

В ранние сроки заболевания клеточность костного мозга варьирует в зависимости от степени гиперплазии преимущественно клеток гранулоцитарного и эритроидного ряда. Соотношение лейко/эритро колеблется в основном за счет клеток лейкопоза. В миелограмме имеет место увеличение количества незрелых и зрелых гранулоцитов. Содержание эритрокариоцитов может быть в пределах нормы или незначительно увеличено. Количество мегакариоцитов обычно сохранено.

В периферической крови длительное время могут сохраняться нормальные показатели количества лейкоцитов, но чаще бывает небольшой лейкоцитоз ( $10,0—20,0 \times 10^9/\text{л}$ ), реже — гиперлейкоцитоз, возможна лейкопения. Изменения в лейкограмме, особенно в ранний период болезни, незначительные, иногда имеется сдвиг до миелоцитов, отмечаются анизоцитоз нейтрофилов, асинхронное созревание ядра и цитоплазмы, нарушение гранулогенеза в нейтрофилах и конденсация хроматина ядер, а также гипо- и гиперсегментированные нейтрофилы. Прогрессирование лейкоза сопровождается нарастанием числа лейкоци-

тов со сдвигом до промиелоцитов и миелобластов. В клетках ней-трофильного ряда наблюдается высокая активность щелочной фосфатазы и концентрация ШИК-положительного вещества.

У большинства больных имеется нормохромная или гиперхромная анемия. В мазках крови обнаруживают анизоцитоз, пойкилоцитоз, нормобласты, невысокий ретикулоцитоз.

Количество тромбоцитов может быть нормальным или повышенным. Тромбоцитоз, часто выявляемый в начальной стадии заболевания ( $400—600 \cdot 10^9/\text{л}$ ), по мере развития лейкоза имеет тенденцию к росту, достигая в крови 1 млн и более, держится долго и может являться причиной нарушений гемостаза. Вследствие фиброзных изменений в костном мозге происходит постепенное уменьшение количества тромбоцитов до нормальных показателей и развитие тромбоцитопении.

Морфология тромбоцитов характеризуется большим разнообразием: анизоцитозом преимущественно с тенденцией к появлению макро- и гигантских форм, уродливыми пластинками в результате нарушения деления цитоплазмы мегакариоцитов и нарушения гранулогенеза.

В крови и моче возможно повышение уровня мочевой кислоты и уратов, особенно в период цитостатической или лучевой терапии.

Терминальная стадия миелофиброза характеризуется увеличением количества лейкоцитов, незрелых гранулоцитов, бластов, реже выявляется эритробластемия. Иногда как следствие фиброза и остеосклероза костного мозга, заболевание завершается развитием аплазии костного мозга, которая сопровождается лейкопенией, эритроцитопенией и тромбоцитопенией.

Исходом миелофиброза могут быть бластный криз по типу острого миелолейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза, аплазия кроветворения, трансформация в ХМЛ либо развитие гематосаркомы селезенки и лимфатических узлов.

**Эритремия.** Эритремия (истинная полицитемия, болезнь Вакеза—Ослера) — клональная опухоль миелоидной ткани, субстратом которой преимущественно являются эритрокариоциты. Эритремия развивается в результате опухолевой трансформации как эритроидных предшественников на уровне бурстобразующей единицы (БОЕ-Э), так и клеток предшественников миелопоэза с той лишь разницей, что в последнем варианте гемопоэз характеризуется большей вариабельностью, так как, помимо эритропоэза, в опухолевый процесс возможно вовлечение грануло- и мегакариоцитопоэза.

**Патогенез.** В костном мозге наблюдается тотальная гиперплазия трех ростков миелопоэза, преимущественно эритрокариоцитов. Клеточные элементы сохраняют способность к дифференцировке и созреванию. Накопление опухолевой массы приводит к увеличению количества эритроцитов как в сосудистом русле, так и в синусах костного мозга, селезенке и других органах, вызывает нарушение реологии крови и как следствие гипоксию тканей и тромботические осложнения. Эритремии свойственна определенная стадийность процесса. В результате несостоятельности костномозгового кроветворения болезнь сопровождается резкими патоморфологическими изменениями. В основе их лежат смена гиперпластической стадии на гипопластическую, постепенное снижение пролиферативной активности клеток 1, 2 или 3 ростков с развитием анемии, тромбоцитопении или нейтропении. Патогенез анемии при эритремии различен, она может развиваться вследствие кровопотерь (дефицит железа), неэффективного эритропоэза, выраженного миелофиброза, гипоплазии, аутоиммунного гемолиза и под влиянием других факторов. Следует отметить, что содержание эритропоэтина в сыворотке крови больных остается в пределах нормы или снижено.

В кроветворных органах обнаруживается фиброз, распространенность которого со временем увеличивается. В исходе болезни костный мозг может оказаться фиброзно-перерожденным с редуцированным гемопоэзом или с выра-

женной гиперплазией гранулоцитов по типу ХМЛ. В селезенке и печени наблюдаются полнокровие, миелоидная ин фильтрация (метаплазия).

**Клиника.** Заболевание встречается преимущественно у лиц пожилого возраста. Клиническая симптоматика развивается постепенно, в зависимости от стадии, длительности течения заболевания и сопутствующих осложнений.

В *начальной стадии* болезни обычно имеются симптомы астении, затем присоединяются симптомы, обусловленные повышенной нагрузкой на сердечно-сосудистую систему (боли в области сердца, одышка, сердцебиение). Отмечается цианоз кожных покровов и слизистых оболочек, нередко кровоточивость десен.

*Развернутая — эритремическая стадия* — более продолжительная по времени, характеризуется миелоидной метаплазией селезенки, которая может наблюдаться в разные сроки болезни, и в меньшей мере гепатомегалией. На этой стадии заболевания возможны тромботические осложнения, чаще проявляющиеся образованием флеботромбозов. Не редко развиваются эритромелалгии — изменения трофики тканей голени, сопровождающиеся сильными постоянными болями в ногах. Нарушается обмен мочевины с развитием гиперурикемии и урикозурии.

В период миелоидной метаплазии селезенки и развития миелосклероза эритремическая стадия сменяется на анемическую. Возможно присоединение геморрагического синдрома и интеркуррентных инфекций.

*Костный мозг.* Стернальная пункция при эритремии не имеет большого диагностического значения, так как пунктат обычно содержит преимущественно эритроциты. Более информативно исследование материала, полученного с помощью трепанобиопсии, которая позволяет выявить гиперплазию красного ростка, уменьшение лейко-эритробластного соотношения, увеличение количества мегакариоцитов и различной степени выраженности фиброз.

*Основные гематологические показатели заболевания*

- увеличение массы эритроцитов,

- увеличение концентрации гемоглобина,
- повышение гематокрита (Ht),
- повышение вязкости крови (ВК),
- низкая СОЭ,
- нарушение ретракции кровяного сгустка.

При нарастании клеточной массы в кровяном русле (сосудистых депо) Ht достигает 60—85%, а ВК может составлять 8—16 ед и более, характерна низкая СОЭ (до 4 мм/ч и ниже). Концентрация гемоглобина и количество эритроцитов обычно варьируют, но как правило повышение происходит постепенно и может достигать соответственно 170 г/л и  $6—7 \times 10^{12}/л$  и более. В ранний период более возможен тромбоцитоз ( $500 \times 10^9/л$  и выше). Лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом чаще наблюдается в развернутой стадии заболевания при появлении миелоидной метаплазии селезенки. В этот период лейкоцитоз может достигать  $15 - 20 \times 10^9/л$  со сдвигом до миелоцитов реже миелобластов и незначительной эритробластемией.

Морфология нейтрофильных лейкоцитов в начальной и развернутой стадиях заболевания мало отличается от нормальной. Цитохимические показатели, такие как активность щелочной фосфатазы и ШИК реакция в нейтрофилах, высокие по сравнению с нормой. Количество ШИК положительных нейтрофилов увеличивается по мере прогрессирования эритремии. Морфологические и цитохимические изменения нейтрофилов в виде анизоцитоза, полиморфизма ядер, грубой зернистости, а также снижения концентрации гликогена и активности щелочной фосфатазы и пероксидазы в нейтрофилах отмечаются преимущественно при миелоидной метаплазии селезенки, трансформации эритремии в хронический или острый миелолейкоз. По мере прогрессирования заболевания пролиферативная активность эритрокардиоцитов снижается. Прослеживается постепенная тенденция к уменьшению количества эритроцитов и гемоглобина до нормальных показателей с последующим развитием нормо или гиперхромной анемии.

*Терминальная стадия* характеризуется наличием в клинической картине осложнений, связанных с поражением органов и сосудов: цирроза печени, тромбоза сосудов головного мозга, коронарных сосудов. Эритремия может завершиться развитием бластного криза. Наиболее часто бластные клетки представлены миелобластами, недифференцированными бластами, эритробластами.

Исходом эритремии могут быть гематосаркома ХМЛ гипоплазия кроветворения и миелофиброз.

**Хронический лимфолейкоз.** Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) относится к опухолям, первично возникающим в костном мозге в результате опухолевой трансформации чаще В-лимфоцитов, реже Т-лимфоцитов и последующей их моноклональной пролиферацией.

ХЛЛ впервые описан в 1845 году, а в середине 60-х гг. охарактеризован Gallon и Dameshek как заболевание, сопровождающееся пролиферацией аномальных лимфоцитов. ХЛЛ составляет 30% всех регистрируемых случаев лейкозов в Европе и Америке, значительно реже выявляется в Азии. Частота встречаемости заболевания - 2,7-3,0 на 100 тысяч населения. Болеют в основном лица старше 50 лет, мужчины в два раза чаще, чем женщины. В детском и юношеском возрасте заболевание встречается крайне редко. Заболеваемость ХЛЛ наблюдается в 2 раза чаще у представителей белой расы, чем негроидной.

Большинство случаев ХЛЛ составляет В-клеточная форма (95%). На долю Т-клеточной формы приходится около 5% от всех наблюдений ХЛЛ, в основном регистрируемых в странах Азии.

Среди этиологических факторов рассматривается воздействие химических веществ, вирусов. Доказана роль человеческого Т-клеточного вируса I типа (HTLV-I) в развитии Т-клеточного варианта ХЛЛ.

**Патогенез.** Опухолевая трансформация происходит на уровне ранних В-лимфоцитов с последующим блоком их дальнейшей дифференцировке и пролиферацией клона опухолевых клеток. Лимфоидные элементы при ХЛЛ как бы

«заморожены» на данном этапе дифференцировки и вся лейкозная популяция является практически мономорфной. Накопление опухолевых клеток связано с нарушением процессов регуляции программированной клеточной смерти (апоптоза). В экспериментальных работах доказана сверхэкспрессия генов семейства Bcl-2 в опухолевых В-лимфоцитах, блокирующих апоптоз, что способствует удлинению продолжительности жизни этих клеток. ХЛЛ относится к медленно прогрессирующим заболеваниям. Опухоль постепенно вытесняет нормальные гемопоэтические клетки, что со временем приводит к развитию недостаточности костномозгового кроветворения. Проплиферация опухолевых В-лимфоцитов в костном мозге, лимфатических узлах, селезенке, реже в других органах (кожа, желудочно-кишечный тракт, почки, легкие и др.) обуславливает клиническую картину заболевания.

**Клиника.** На протяжении нескольких лет заболевание протекает бессимптомно. Лишь выявление абсолютного лимфоцитоза при исследовании клеточного состава периферической крови может привлечь внимание врача. Заболевание сопровождается общими для многих злокачественных опухолей неспецифическими симптомами - слабостью, быстрой утомляемостью, повышенным потоотделением, потерей массы тела, связанными с опухолевой интоксикацией.

По мере нарастания опухолевой массы отмечается постепенное увеличение лимфатических узлов: в первую очередь шейных и подмышечных. В последующем процесс может распространиться практически на любую группу лимфоузлов. Пораженные лимфатические узлы при ХЛЛ безболезненны, не имеют местной кожной гиперемии, эластичные, подвижные, не спаяны с кожей. Внезапный рост лимфатического узла, изменение его консистенции («деревянной плотности») требует цитологического исследования с целью возможного выявления трансформации ХЛЛ в лимфосаркому. Увеличение лимфатических узлов при ХЛЛ обычно происходит медленно, но со временем их увеличение может приводить к сдавлению близлежащих органов и нарушению их функции. По мере прогрессирования процесса выявляется гепатоспленомегалия.

Для больных ХЛЛ характерна повышенная восприимчивость к инфекции вследствие нарушений в системе клеточного и гуморального иммунитета. Наиболее часто встречаются бактериальные и вирусные инфекции со стороны дыхательной и мочевыводящей систем, вызванные стафилококками, стрептококками, различными грамотрицательными микроорганизмами. В развернутой стадии заболевания могут наблюдаться инфекции, вызванные *Candida* и *Aspergillus*, а также вирусом герпеса и цитомегаловирусом.

Дефект противоопухолевого иммунитета является причиной повышенной склонности больных ХЛЛ к развитию вторичных опухолей. Наиболее часто при ХЛЛ встречается рак кожи и кишечника.

Существуют различные клинические классификации ХЛЛ. В зависимости от локализации опухоли, особенностей течения заболевания в классификации, предложенной А.И. Воробьевым и М.Д. Бриллиант (1985 г., с изменениями и дополнениями 1999 г.), выделено несколько форм ХЛЛ - доброкачественная, прогрессирующая, опухолевая, селезеночная, абдоминальная, костномозговая. Согласно классификации, предложенной Rai К. с соавт., выделяют 5 стадий болезни.

Таблица 2.

Классификация ХЛЛ (Rai, 1975)

Стадия	Характеристика	Группа риска	Медиана выживаемости
0	Лимфоцитоз в крови ( $>15 \times 10^9/\text{л}$ ) и костном мозге ( $>40\%$ )	Низкая	Более 10 лет
I	Лимфоцитоз и лимфаденопатия	Промежуточная	9 лет
II	Лимфоцитоз, сплено-и/или гепатомегалия, +/- лимфаденопатия	Промежуточная	6 лет

III	Лимфоцитоз и анемия (Hb < 100 г/л), +/- лимфаденопатия, гепатоспленомегалия	Высокая	Менее 3 лет
IV	Лимфоцитоз, тромбоцитопения (< 100 × 10 <sup>9</sup> /л) независимо от увеличения лимфатических узлов и органов	Высокая	

Классификация Binet J. с соавт. предусматривает 3 стадии ХЛЛ, обозначаемые буквами А, В и С, которые коррелируют со средней продолжительностью жизни больных.

А. Помимо предусмотренного диагнозом лимфоцитоза крови и костного мозга, имеется одностороннее или двухстороннее увеличение лимфатических узлов в 1-2 областях, анемия и тромбоцитопения отсутствуют.

В. Увеличение лимфатических узлов в 3 областях и более. Анемия и тромбоцитопения отсутствуют.

С. Независимо от количества зон с увеличением лимфатических узлов и наличия увеличения органов имеется анемия и тромбоцитопения.

Таблица 3.

Классификация ХЛЛ (Binet J., 1981)

Стадия	Характеристика	Выживаемость
А	Гемоглобин > 100 г/л; тромбоциты > 100,0 × 10 <sup>9</sup> /л; менее 3 групп лимфатических узлов вовлечены в процесс	Более 10 лет
В	Гемоглобин > 100 г/л; тромбоциты > 100,0 × 10 <sup>9</sup> /л; более 3 групп лимфатических узлов вовлечены в процесс	5 лет
С	Гемоглобин < 100 г/л и/или тромбоциты < 100,0 × 10 <sup>9</sup> /л	2 года

**Лабораторная диагностика**

В зависимости от стадии заболевания костный мозг может быть нормо- или гиперклеточным. Процент лимфоцитов в стерильном пунктате колеблется

в широких пределах от 20-30% вплоть до тотальной мономорфной лимфоидной инфильтрации. По данным трепанобиопсии поражение костного мозга носит очаговый или диффузный характер. Независимо от стадии заболевания диффузная инфильтрация костного мозга лимфоидными клетками сочетается с малой продолжительностью жизни больных (менее 43 мес.) по сравнению с очаговой инфильтрацией (100 мес.).

В начальной стадии заболевания картина периферической крови обычно представлена нормальным или незначительно повышенным количеством лейкоцитов. Как правило, анемия и тромбоцитопения отсутствуют. Основным гематологическим показателем при ХЛЛ является абсолютный лимфоцитоз.

Согласно рекомендациям экспертов ФАБ группы диагноз ХЛЛ считается установленным при абсолютном количестве лимфоцитов в крови, превышающем  $10 \times 10^9/\text{л}$ , наличии более 30% лимфоцитов в костном мозге и иммунологическом подтверждении существования В-клеточного клона лейкоэмических клеток.

Имеет место относительная или абсолютная нейтропения. Лимфоциты периферической крови при ХЛЛ характеризуются небольшими размерами (7-10 мкм), округлым ядром, грубым, тяжистым распределением хроматина, отсутствием нуклеол, узкой, базофильного цвета, цитоплазмой. Встречаются клетки цитолиза.

В развернутой стадии заболевания нарастает лейкоцитоз, относительный и абсолютный лимфоцитоз, нейтропения, наблюдается нормохромная анемия и/или тромбоцитопения. В лейкоцитарной формуле пролимфоциты составляют менее 10%, встречаются при просмотре препарата лимфобласты.

Обнаружение лимфоцитов с расщепленными, перекрученными, неправильной формой ядрами, грубой тяжистой или волокнистой структурой хроматина свидетельствует о возможной лейкоемизации лимфосаркомы или Т-клеточном варианте ХЛЛ. В периферической крови могут обнаруживаться еди-

ничные миелоциты и метамиелоциты, обычно на фоне инфекционных заболеваний, а также нормобласты.

Примерно у 15% больных ХЛЛ наблюдается развитие аутоиммунной гемолитической анемии, реже тромбоцитопении за счет образования аутоантител к эритроцитам или эритрокариоцитам костного мозга, тромбоцитам. Развитие анемии сопровождается раздражением красного ростка в костном мозге, ретикулоцитозом, появлением нормобластов в периферической крови, повышением содержания неконъюгированного (непрямого) билирубина в сыворотке крови. Аутоиммунный генез анемии подтверждается положительной прямой пробой Кумбса и другими тестами, выявляющими аутоантитела.

**Цитограмма лимфатических узлов (ЛУ)** при ХЛЛ характеризуется пролиферацией мономорфной популяции морфологически зрелых лимфоцитов. Подобная цитограмма ЛУ наблюдается при лимфоцитарной (зрелоклеточной) лимфосаркоме (лимфоме из малых лимфоцитов), но при этом, в отличие от ХЛЛ, отсутствуют изменения в периферической крови. В то же время, при лейкоемизации лимфоцитарной лимфосаркомы картина крови, костного мозга и цитограмма лимфатических узлов аналогичны ХЛЛ.

Морфологический субстрат и иммунологический фенотип лимфоцитов идентичен при ХЛЛ и лимфоцитарной лимфосаркоме, поэтому высказывается точка зрения о различных проявлениях одного и того же опухолевого процесса.

**Иммунологический фенотип.** В 95% случаев ХЛЛ имеет В-клеточный иммунологический фенотип с экспрессией поверхностных В-клеточных антигенов CD 19, CD20, CD24, CD79a и активационных антигенов CD5, CD23, CD43. Экспрессия CD5 считается обязательной для иммунологического подтверждения В-ХЛЛ. Однако описаны редкие наблюдения ХЛЛ (7%>) с отсутствием CD5 на В-лимфоцитах. CD23 используют для дифференциальной диагностики В-ХЛЛ и лейкоемизации лимфомы из клеток зоны мантии лимфатического узла, имеющей аналогичный В-ХЛЛ иммунофенотип, но без экспрессии

CD23. Для ХЛЛ в отличие от нормальных В-лимфоцитов и лимфосарком характерна слабая экспрессия поверхностных иммуноглобулинов (чаще sIgM, реже IgM +IgD с одинаковыми легкими цепями).

Практически у всех больных наблюдается гипогаммаглобулинемия со снижением концентрации нормальных иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA), что отражает нарушение гуморального иммунитета и повышает чувствительность больных ХЛЛ к инфекциям. При использовании современных методов электрофореза можно обнаружить белок Бенс-Джонса в моче, значительно реже встречается моноклональный иммуноглобулин в сыворотке крови.

**Цитогенетика.** У 50-60% больных ХЛЛ обнаруживают клональные хромосомные aberrации, наиболее часто - трисомия 12, структурные дефекты в 13, 14 хромосомах. Изучение цитогенетических особенностей клеток имеет прогностическое значение. Средняя продолжительность жизни больных с хромосомными аномалиями значительно короче (7,7 лет), чем без таковых (до 15 лет).

**Прогноз.** ХЛЛ является достаточно медленно протекающим заболеванием. Средняя продолжительность жизни составляет около 10 лет.

**Исход ХЛЛ.** Наиболее часто встречается трансформация ХЛЛ в пролимфоцитарный лейкоз, что характеризуется нарастанием лейкоцитоза, числа пролимфоцитов, анемии и тромбоцитопении. Эти изменения сопровождаются резкой лимфаденопатией, спленомегалией, развитием рефрактерности к проводимой терапии.

В 3-10% случаев наблюдается синдром Рихтера (крупноклеточная анапластическая лимфосаркома). Он характеризуется ухудшением общего состояния больных, развитием общих симптомов, таких как лихорадка, потеря веса, потливость, генерализацией экстрамедуллярного опухолевого процесса с резким увеличением лимфатических узлов и/или экстранодальной локализацией

очагов опухолевого роста. Возможна трансформация ХЛЛ в острый лейкоз (чаще острый лимфобластный лейкоз, L2 вариант), реже в миеломную болезнь.

### **Литература.**

1. Руководство по гематологии (под ред. Воробьева А.И.) – М.: Медицина, 1985 г, в 2-х томах.
2. Исследование системы крови в клинической практике (под ред. Г.И. Козинца и В.А. Макарова). – М.: Триада – X, 1997 г. – 480 с.
3. Клиническая лабораторная аналитика (под ред. В.В.Меньшикова) – М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999 г. – 2 т.
4. Фред Дж. Шиффман Патология физиологии крови – М. – СПб.: «Издательство БИНОМ» – «Невский Диалект», 2000 г.-448 с.
5. Вуд М., Банн П. Секреты гематологии и онкологии. – М.: «Издательство Бинном», 1997 г. –560 с.
6. Долгов В.В., Луговская С.А., Почтарь М.Е., Шевченко Н.Г. Лабораторная диагностика нарушений обмена железа. – М., РМАПО, 1996 г. – 42 с.
7. Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е. Лабораторная диагностика лейкозов. - М., РМАПО, 1999 г. – 80 с.