

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО  
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
А. НАВОИ**

Факультет Естественных наук  
Направление – Биология

**Кафедра: Физиологии, генетики и биохимии**

**ТЕМА: БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ КРОВИ (АНЕМИЙ).**

**КВАЛИФИКАЦИОННАЯ ВЫПУСКНАЯ РАБОТА**

Для получения степени бакалавра по направлению «5420100 Биология»

Исполнитель: Хусанова Г. Х.

Научный руководитель: Доц. Кан С. В.

20\_\_ г. «\_\_» \_\_\_\_\_

Квалификационная выпускная работа

**Выполнена на кафедре:** Физиологии, генетики и биохимии.

Обсуждена на заседании кафедры от \_\_ июня 2012 г. (протокол №\_\_)

Заведующий кафедрой:

Доц. Бозоров Б. М.

**Защита**

Квалификационная выпускная работа

Состоялась на заседании ГАК от 20 июня 2012 г.

**Оценка:** \_\_\_\_\_ (протокол №\_\_)

**Председатель:**

**Самарканд 2012**

## Содержание:

Введение.....	3
1. Литературный обзор.....	5
1.1. Патогенез и классификация форм заболеваний крови.....	5
1.1.1 Схема нормального кроветворения.....	5
1.1.2. Классификация и патогенез заболеваний крови.....	9
1.1.3 Классификация и патогенез анемий .....	12
1.2. Биохимические и генетические особенности заболеваний крови.....	22
1.2.1. Генетические особенности заболеваний крови.....	22
1.2.2. Биохимические особенности заболеваний крови.....	30
2. Место, объекты и методы исследования.....	41
2.1. Место исследования .....	41
2.2. Объекты исследования.....	41
2.3. Методы исследования.....	41
3. Результаты исследования.....	47
а. Изучение биохимических показателей периферической крови больных разными формами анемий.....	47
3.2. Изучение генетических особенностей анемий.....	56
Выводы.....	61
Рекомендации.....	62
Список использованной литературы.....	63

## Введение

**Актуальность темы.** Развитие научно-технического процесса непрерывно возрастает давление антропогенных факторов на человека, животных, растения, микроорганизмы и окружающую их природную среду. Ежегодно в мире синтезируют десятки тысяч новых соединений и тысячи из них – ранее не свойственных биосфере овладевают в промышленности, сельском хозяйстве, используются в медицине, они выбрасываются с промышленными отходами, вносятся в быт. До 20% ранее не существовавших в биосфере веществ- ксенобиотиков обладают выраженным гемотаксическим действием, обуславливающим раковые повреждения самоцитических клеток, а при действии на половые клетки отрицательно влияют на эмбриогенез, ведут к тератогенезу и формируют наследственную патологию. Любая практически значимая патология развивается на фоне прогрессирующей химизации внутренней среды организма. Характерные загрязнители окружающей среды, такие как окись углерода, сернистый газ, оксиды азота, взвешанные частицы, поверхностно-активные вещества увеличивает уровень сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, вызывают аллергические, вирусные болезни, способствуют увеличению таких заболеваний как гемобластозы и анемии.

Анемии и гемобластозы занимают особую группу заболеваний, где нарушение патологических процессов могут быть следствием нарушения защитных реакций организма, иммунологических механизмов, уничтожения повреждённых клеток связанных с изменением их наследственных структур.

Анемии- это патологические состояния, характеризующиеся снижением гемоглобина или количества эритроцитов в крови. Они всегда являются одним из симптомов общего заболевания и наряду с часто встречающимися и легко диагностируемыми формами анемий имеются редкие анемические синдромы.

Прогрессирующий рост заболеваемости разными формами анемий среди населения многих стран мира и недостаток информации о причинах заболевания на первых этапах развития патологического процесса требуют всестороннего изучения генетико-биохимических основ данного заболевания, являясь одной из актуальных проблем современной биологии и медицины.

**Цель и задачи исследования.** Целью наших исследований было изучение принципов классификации и патогенеза заболеваний крови (анемий), их биохимических и генетических особенностей.

Основными задачами были:

1. Изучение классификации и патогенеза заболеваний крови.
2. Изучении классификации и патогенеза анемий.
3. Изучение биохимических и генетических особенностей заболеваний крови.
4. Анализ биохимических показателей периферической крови больных анемиями.
5. Изучение генетических особенностей анемий.

**Научное и практическое значение.** Изучены принципы классификации заболеваний системы крови, даны современные представления об их этиологии и патогенезе. Изучена классификация анемий, её биохимические и генетические особенности. Проведены биохимические и генетические исследования периферической крови больных постгеморрагической и железодефицитной анемиями, даны рекомендации по использованию генетических методов для определения их наследственных форм.

**Объём и структура работы.** Квалификационная работа состоит из 66 страниц, введения, литературного обзора(3 глав, 11 параграфов), материалов и методов исследования, результатов исследования, выводов, списка использованной литературы, содержит 1 схему, 13 рисунков и 3 таблицы. В списке литературы имеется 43 источников, из них 10 иностранных, использованы ресурсы интернета.

## **1. Литературный обзор.**

### **1.1. Патогенез и классификация форм заболеваний крови.**

#### **1.1.1.Схема нормального кроветворения.**

Кроветворение – это свойство организма восстанавливать форменные элементы крови. Образование новых клеток крови происходит за счёт митоза недифференцированных клеток кроветворных органов. Выделяют 4 этапа эмбрионального кроветворения: мезобластический, печёночный и медуллярный. Эти этапы во времени перекрывают друг друга, а не идут один вслед за другим[1].

Мезобластический этап имеет место с конца 2-й – начала 3-ей недели внутриутробного развития. В стенке желточного мешка появляется скопление мезенхимальных клеток – «кровяные островки». Периферические клетки островков образуют эндотелий капилляров. Центральные клетки преобразуются в мегалобласты – первичные эритроциты. Данное кроветворение интравезикулярное, то есть происходит внутри сосуда. Образуются только клетки эритроидного ростка, причём они имеют крупный размер, могут содержать ядро, в цитоплазме которого находится гемоглобин Р. Часть стволовых клеток первой генерации попадают в кровь и заносятся в зачаток печени.

Печёночный этап кроветворения идёт с 6-й недели. Центр кроветворения - печень. Данное кроветворение экстравезикулярное (вокруг капилляров), причём образуются все форменные элементы крови. Эритроциты имеют нормальный размер и содержат гемоглобин F. Из печени выходят стволовые клетки второй генерации, которые оседают в зачатках красного костного мозга, тимуса, лимфоузлов и селезёнки. На медуллярном этапе кроветворение экстравезикулярное, эритроциты содержат гемоглобин F. В это время в кроветворении участвуют все перечисленные выше органы. Они способны к кроветворению и после рождения в определённых условиях[20,43].

Красный костный мозг (ККМ) осуществляет кроветворение с 3-его месяца эмбриогенеза и сохраняет стволовые клетки 3-ей генерации. На 8-ой – 9-ой неделе эмбриогенеза ККМ покидают предшественники Т-лимфоцитов. Они приходят в тимус, где проходят антиген-независимую дифференцировку, то есть осуществляется главная функция тимуса. Сначала эти органы образуют все форменные элементы крови (лимфоузлы – до 15 недели эмбриогенеза, а селезенка – до рождения). Затем в них происходит только антиген-зависимая дифференцировка Т- и В-лимфоцитов. К моменту рождения кроветворение ограничивается только ККМ и лимфоидной тканью. При патологии данных органов очаги кроветворения могут наблюдаться в печени, селезенке, лимфатических узлах – экстрамедуллярный гемопоэз.

Различают 2 вида кроветворения: миелопоэз (образование всех клеток крови, кроме лимфоцитов) и лимфопоэз (образование лимфоцитов).

Миелопоэз происходит в миелоидной ткани, то есть в ККМ. Кроме миелопоэза в ККМ проходит начальная стадия созревания Т-лимфоцитов и антиген-независимая дифференцировка В-лимфоцитов. Миелоидная ткань состоит из 2-х компонентов: стромального и эмального. Стромальный компонент это ретикулярная ткань ККМ, лимфоузлы, селезенка, эпителиальная ткань тимуса, соединительная ткань, лимфатические узлы слизистых оболочек. Эмальный компонент это кроветворные клетки на разных стадиях дифференцировки[22].

В настоящее время предложена современная схема кроветворения, согласно которой все клетки крови происходят из одного источника – стволовой клетки. Линия дифференцировки включает 6 классов клеток.

1 класс – стволовая клетка. Она полипотентная, то есть может давать начало всем клеткам крови. Эти клетки делятся редко, в основном в стадии G<sub>0</sub>.

2 класс – полустволовая клетка. Это частично детерминированная клетка. Она может дифференцироваться в клетку миелоидного и лимфоидного ряда,

чувствительна к регуляторам гемопоэза, которые определяют направление дифференцировки.

3 класс – унипотентные клетки, могут развиваться только в одном направлении. Клетки 1, 2 и 3 класса находятся в ККМ и морфологически друг от друга не отличаются, внешне похожи на малые лимфоциты.

4 класс – бластные клетки. Они имеют более крупный размер, светлое ядро, 1-3 ядрышка, между собой не различимы.

5 класс – созревающие клетки.

6 класс – зрелые клетки.

Процесс кроветворения можно изобразить в виде схемы, в которой клетки расположены в определенной последовательности, основанной на степени их созревания (схема-1.1). Во время кроветворения клетки делятся на следующие 5 стадии: Эритропоэз- клетки 5 класса – проэриthroбласты. Размер 15-18 мкм, составляют до 2% в пунктате ККМ, к клетке интенсивно образуются глобиновые мРНК. Данные клетки дифференцируются в нормобласты. Нормобласт характеризуется появлением гемоглобина в цитоплазме. Содержание нормобластов в пунктате ККМ – 7-30%. Нормобласты могут быть базофильными, полихроматофильными и оксифильными. Базофильный нормобласт имеет большое круглое ядро, гранулярный хроматин выглядит, как «спицы в колесе», в цитоплазме большое количество рибосом, что необходимо для синтеза гемоглобина и обуславливает базофилию цитоплазмы [35,3,2].

Полихроматофильный нормобласт содержит в цитоплазме рибосомы, обуславливающие базофилию, и гемоглобин, придающий оксифилию, таким образом цитоплазма окрашивается в серо-розовый цвет. Оксифильный нормобласт содержит большое количество гемоглобина, поэтому окрашивается оксифильно.

Клетки 6 класса это ретикулоцит и эритроцит. Суть эритропоэза заключается в снижении размера клеток, редукция органелл, накопление

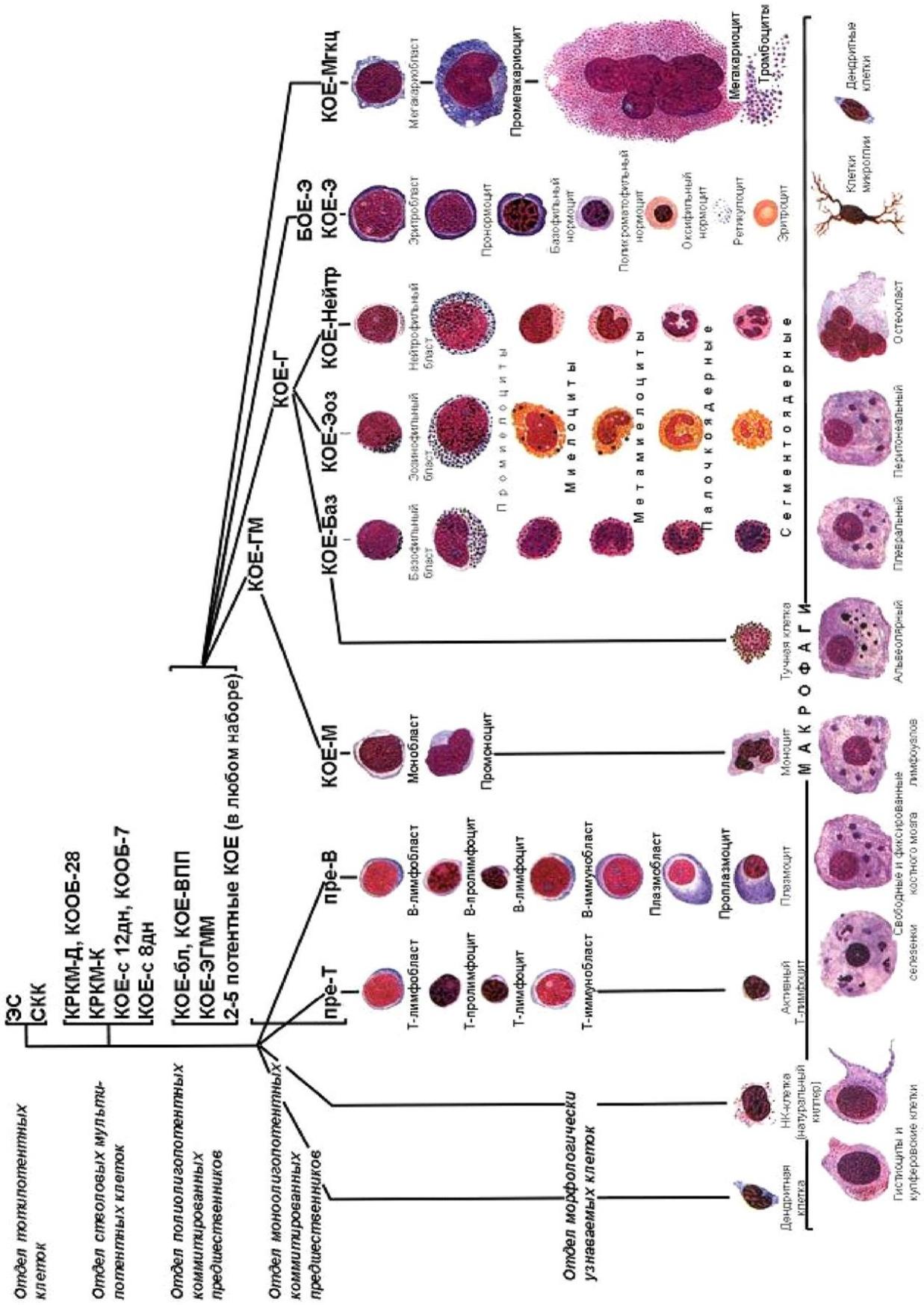


Схема-1.1. Кроветворение.

гемоглобина, а также уплотнение ядра и выход его из клетки. Гранулоцитопоз - клетки 5 класса – промиелоциты. Цитоплазма базофильна, в ядре сохранены ядрышки, появляется неспецифическая зернистость. Промиеоцит преобразуется в миелоцит. Миелоцит имеет округлое или овальное ядро, ядрышек нет, в цитоплазме появляется специфическая зернистость. Эти клетки составляют 10-20% в пунктате ККМ. В зависимости от вида зернистости выделяют нейтрофильный, базофильный и эозинофильный миелоцит. Миелоцит преобразуется в метамиелоцит. Метамиелоцит может появляться в периферической крови, имеет ядро бобовидной формы. Эта клетка созревает в палочкоядерные и сегментоядерные гранулоциты, которые являются уже клетками 6 класса. Суть гранулоцитопоза - снижение размера клетки, снижение базофилии цитоплазмы, накопление зернистости, уменьшение в размерах и сегментация ядра [29,30].

Лимфоцитопоз - клетки 5 класса – пролимфоциты. Морфологически он не отличается от лимфоцитов, но на его поверхности нет иммуноглобулинов, которые на данной стадии синтезируются в цитоплазме. В- и Т-пролимфоциты отличаются друг от друга набором поверхностных антигенов.

Моноцитопоз - клетки 5 класса – промоноциты, имеет большое круглое ядро, в цитоплазме нет гранул. Он созревает в моноцит. Конечная стадия дифференцировки клеток моноцитарного ряда – не моноцит, а тканевой макрофаг.

Тромбоцитопоз - клетки 4 класса – мегакариобласты. Они имеют размер 25-40 мкм, ядро неправильной формы, содержащее до 3 ядрышек. Цитоплазма базофильна. Клетка 5 класса – промегакариоциты. Имеют полиплоидное ядро. Размер ядра и самой клетки увеличен. [4].

### **1.1.2. Классификация и патогенез форм заболеваний крови.**

Среди многих групп заболеваний различной этиологии особое место занимают болезни системы крови; связанные с нарушением работы органов

кроветворения и кроверазрушения. К ним относят анемии, гемофилии и гемобластозы.

В литературе для обозначения новообразований, возникающих из клеток кроветворной ткани используют термин «гемобластозы». Гемо-бластозы в зависимости от характера локализации патологического процесса подразделяют на две большие группы: системные поражения (лейкозы) и регионарные поражения (опухоли). В основе патологических процессов при гемобластозах лежит опухолевая трансформация нормальных кроветворных клеток. Об этом свидетельствуют следующие закономерности: нарушение способности клеток к дифференцировке, вплоть до полного её торможения, морфологический и метаболический атипизм клеток, наличие прогрессии и способности к метастазированию. В настоящее время установлено, что все гемобластозы, как и другие злокачественные опухоли, начинаются с одной первоначально мутировавшей клетки, причем клетки – потомки сохраняют многие признаки «стволовой» опухолевой клетки – возникает опухолевой клон. При накоплении достаточно количества опухолевых клеток (около  $10^{12}$  трил.) возникают первые клинические симптомы гемобластозов, беспредельный рост и пониженная способность к дифференцировке.

К злокачественным формам гемобластозов относят такие заболевания как эритремия (истинная полицитемия) (рисунок-1.1). Клональный миелопролиферативный процесс, обусловленный опухолевой трансформацией стволовой клетки. Этиология неизвестна. В основе автономной пролиферации клеток-предшественниц эритропоэза лежит опухолевая трансформация полипотентной стволовой клетки. Дифференцировка опухолевого клона идет преимущественно в сторону эритропоэза, однако гранулоцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения также имеют опухолевую природу[26,10].

Наблюдаются при различных заболеваниях эритроцитозы (вторичные). Увеличение (абсолютное или относительное) массы эритроцитов при них

может быть обусловлено как тканевой гипоксией, так и повышенной продукцией клеток вследствие стимулирующего воздействия на эритро-поэз нефизиологического характера.

Группа таких заболеваний, как лейкозы (лейкемия) характеризуются трансформацией определенных кроветворных клеток в злокачественные, неограниченное размножение которых приводит к замещению ими нормальных клеток костного мозга и очень высокому содержанию в крови измененных лейкоцитов. Лейкозы подразделяют на несколько видов в зависимости от того, какие клетки подверглись злокачественному перерождению. Так, в случае превращения в лейкозные клетки лимфоцитов заболевание называют лимфолейкозом, а в случае перерождения миелоцитов (гранулоцитов) - миелолейкозом. Лейкозная трансформация других типов лейкоцитов встречается гораздо реже. Измененные клетки отличаются по своему виду и по содержащимся в них белкам.

Лейкозы разделяют на острые и хронические. При острых лейкозах клетки остаются очень незрелыми и функции нормальных клеток у них не развиваются (рисунок-1.2). Такие лейкозы протекают обычно крайне тяжело и требуют немедленного лечения. При хронических лейкозах клетки более зрелые; заболевание может длиться много лет даже на фоне минимальной поддерживающей терапии (рисунок-1.3; 1.4).

Лейкоз - системное заболевание крови, характеризующееся следующими особенностями:

1) прогрессирующей клеточной гиперплазией в органах кроветворения, а нередко и в периферической крови с резким преобладанием пролиферативных процессов над процессами нормальной дифференциации клеток крови;

2) метапластическим разрастанием различных патологических элементов, развивающихся из исходных клеток, составляющим морфологическую сущность того или иного типа лейкоза[8,33,37].

Разнообразная группа опухолей системы крови, которые на первых этапах пролиферации либо совсем не поражают костный мозг, либо опухолевая пролиферация в нем незначительна, такие болезни называются нелейкемические гемобластозы. Все эти опухоли в своем развитии могут лейкоцизировать, т.е. метастазировать в костный мозг.

Нелейкемические гемобластозы могут быть подразделены на две большие подгруппы: нелейкемические гемобластозы лимфатической природы (лимфогранулематоз, лимфомы и лимфосаркомы) и нелимфатической природы (макрофагальные опухоли, злокачественные гистиоцитозы, миелоидные саркомы).

Первичное опухолевое заболевание лимфатической системы является лимфогранулематоз (ЛГМ). Процесс возникает уницентрично и распространяется метастатическим путем. В 1832 г. Т.Ходжкин описал 7 больных с поражением лимфатических узлов и селезенки. Название "болезнь Ходжкина" предложено в 1865 г.

### **1.1.3. Классификация и патогенез анемий.**

Анемии - группа заболеваний крови, характеризующихся уменьшением концентрации гемоглобина в единице объема крови. В большинстве случаев при анемиях снижается и число эритроцитов.

Существуют различные классификации анемий. Наибольший интерес представляет патогенетическая классификация анемий:

- I. Анемии вследствие кровопотери (постгеморрагические).
  1. Острая постгеморрагическая анемия.
  2. Хроническая постгеморрагическая анемия.
- II. Анемии вследствие нарушения образования эритроцитов и гемоглобина.
  3. Железодефицитная анемия.

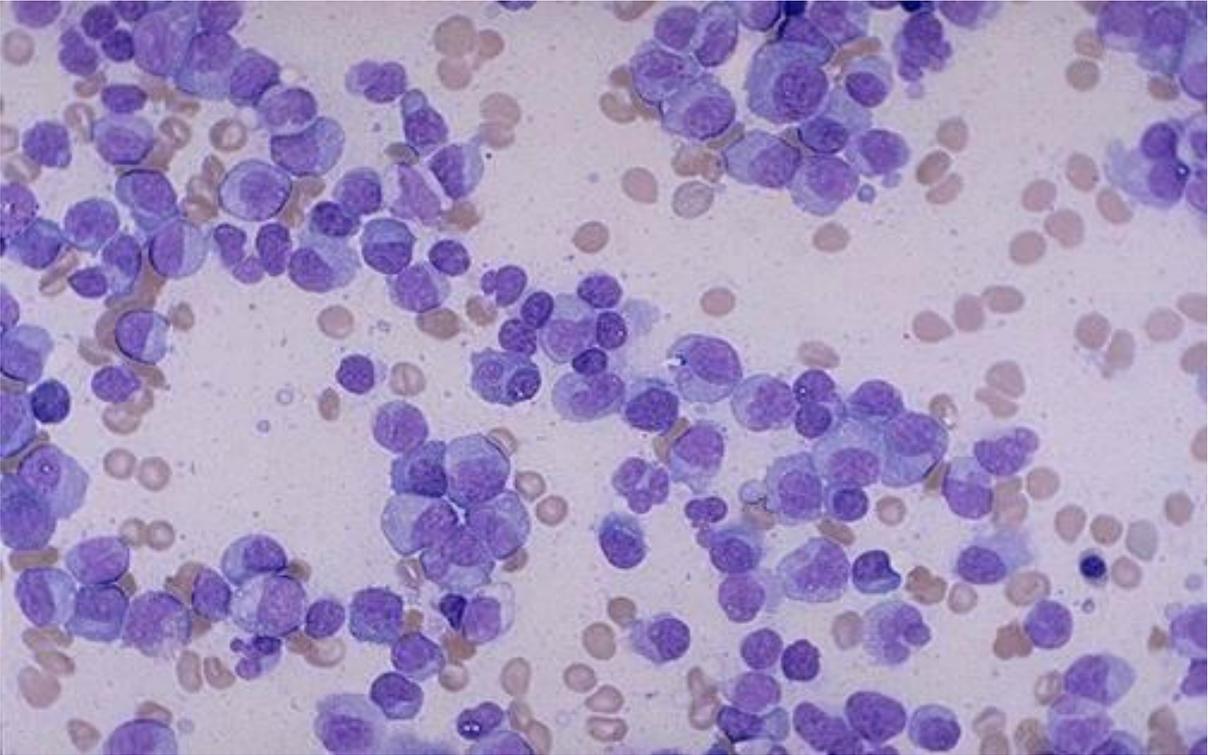


Рисунок-1.1. Эритремия (истинная полицитемия).

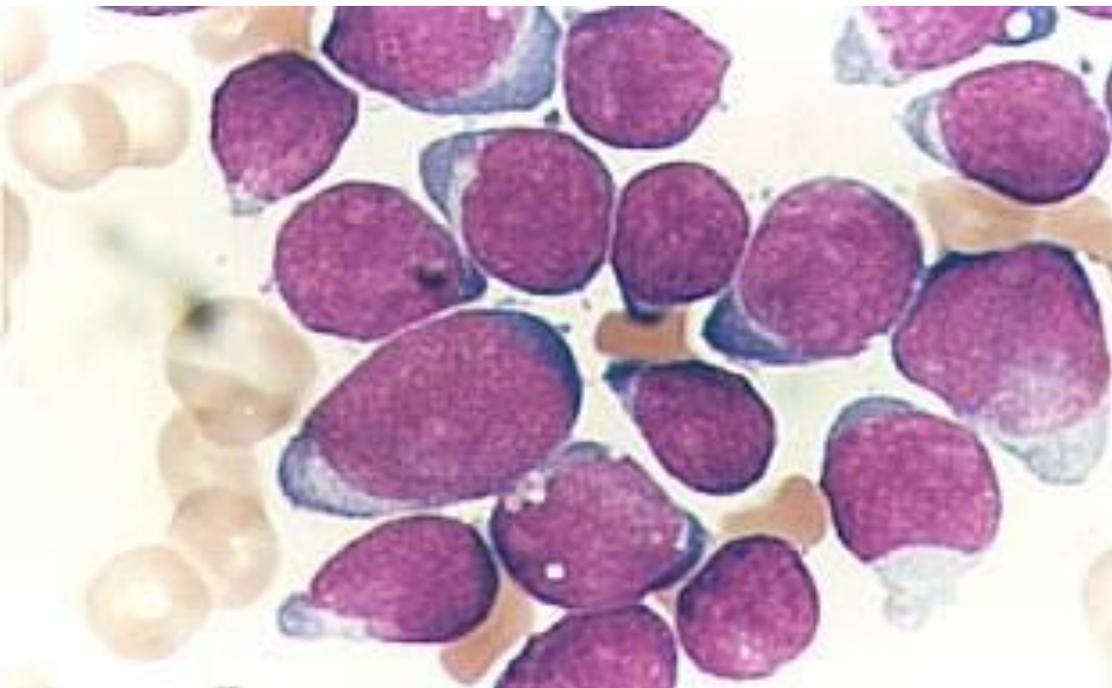


Рисунок-1.2. Острый лейкоз.

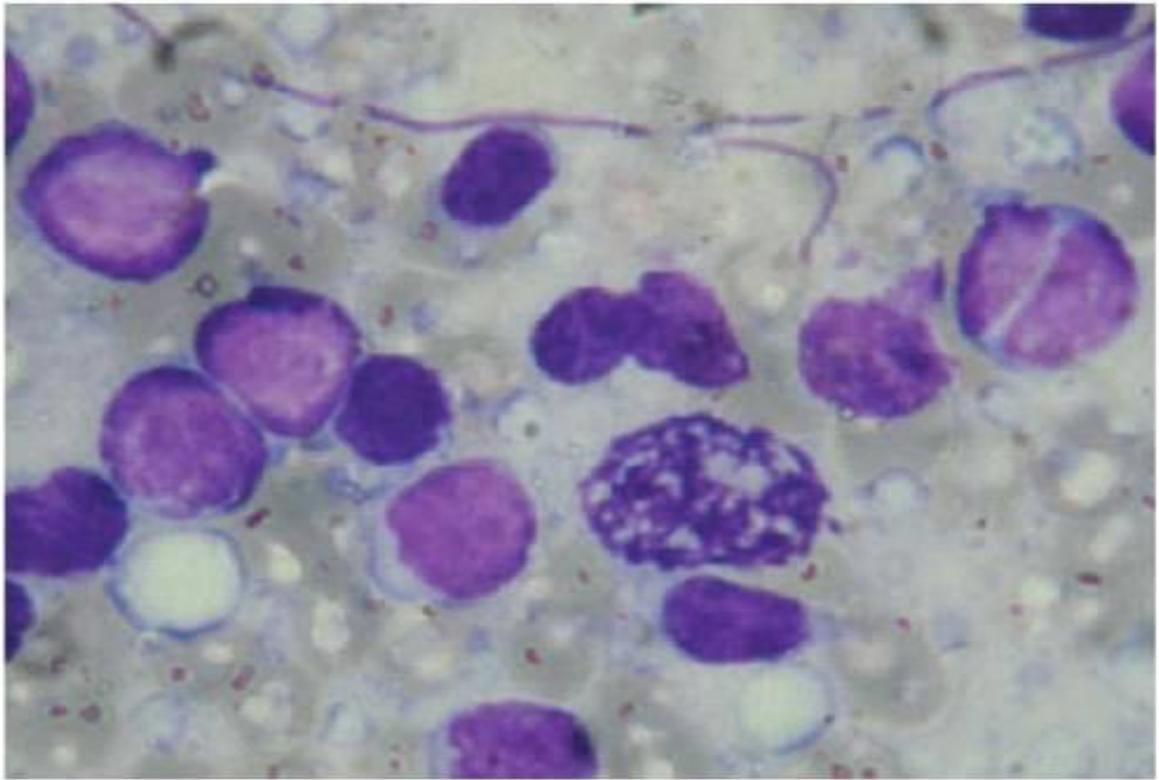


Рисунок-1.3. Хронический лейкоз.

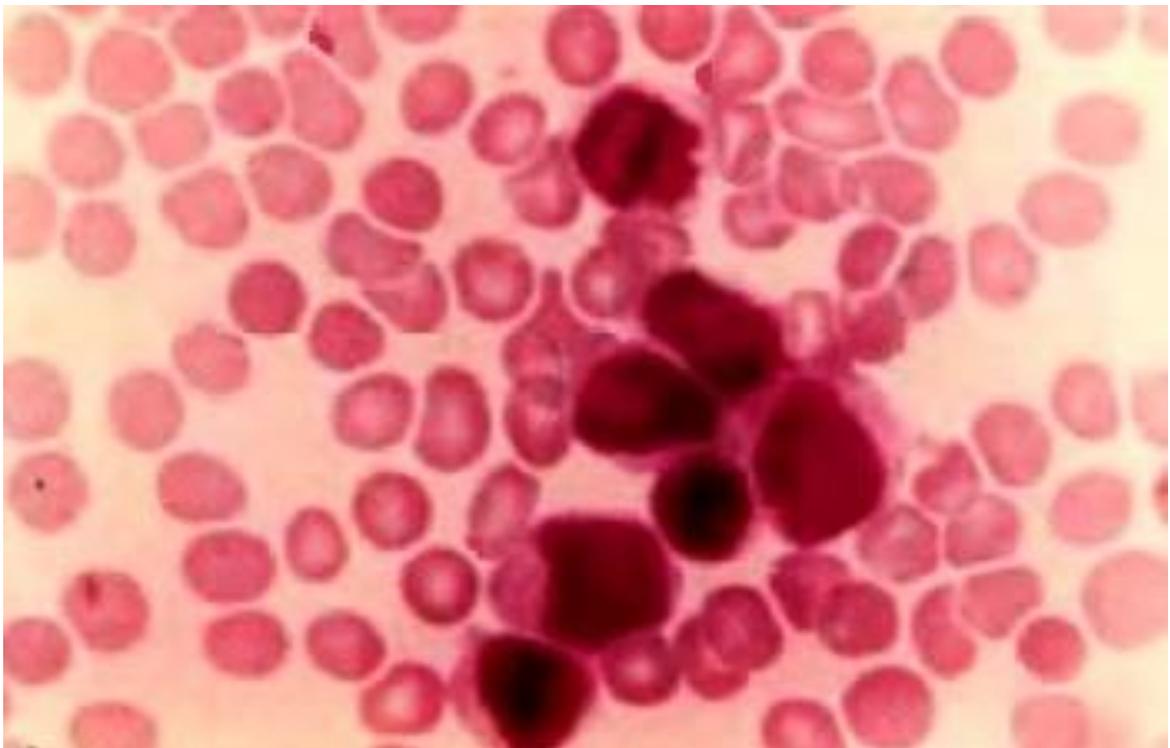


Рисунок-1.4. Острый миеломонобластный лейкоз.

4. Железонасыщенная (сидероахрестическая) анемия, связанная с нарушением синтеза гема.
5. Мегалобластные анемии, связанные с нарушением синтеза ДНК.

III. Анемии, связанные с костномозговой недостаточностью.

6. Метапластические анемии.
7. Дисэритропоэтические анемии.
8. Гемолитические анемии вследствие сильного кроворазрушения
9. Наследственные.
10. Связанные с нарушением структуры мембраны эритроцитов (микросфероцитарная анемия Миньковского-Шаффара, овалоцитоз, акантоцитоз).
11. Связанные с дефицитом ферментов в эритроцитах.
12. Связанные с нарушением синтеза гемоглобина (серповидноклеточная анемия, гемоглобинозы, талассемия).
13. Приобретенные.
14. Аутоиммунные.
15. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия.
16. Лекарственные.
17. Травматические и микроангиопатические.
18. Вследствие отравления гемолитическими ядами и бактериальными токсинами.

IV. Анемии смешанные.

Данная патогенетическая классификация во многом условна и относительна, но она позволяет ориентироваться в многообразии анемий и отнести анемию у пациента к одной из патогенетических групп (вследствие кровопотери, гемолиза или нарушения гемопоэза), что можно считать первым этапом диагностики анемий[11]. Наряду с патогенетической классификацией существует морфологическая классификация анемий, в которой основным признаком является размер эритроцита:

1. Макроцитарная анемия ( $MCV^* > 100 \text{ мкм}^3$  (фл); диаметр эритроцитов  $> 8 \text{ мкм}$ )
  2. Мегалобластная
  3. Немегалобластная
  4. Микроцитарная анемия ( $MCV < 80 \text{ мкм}^3$  (фл), диаметр эритроцитов  $< 6.5 \text{ мкм}$ ), связанная с дефицитом железа с нарушением синтеза глобина (талассемия, гемоглобинопатии), нарушение синтеза порфирина и гема
- III. Нормоцитарная анемия ( $MCV 81-99 \text{ мкм}^3$  (фл), диаметр эритроцитов  $7.2-7.5 \text{ мкм}$ ). Недавняя кровопотеря, значительное увеличение объема плазмы (беременность, гипергидратация), гемолиз эритроцитов, гипопластическая анемия, инфильтративные изменения в костном мозге (лейкемия, множественная миелома, миелофиброз), эндокринная патология (гипотиреоз, надпочечниковая недостаточность), различные хронические заболевания, болезни почек, цирроз печени, диаметр эритроцита измеряется с помощью окуляр-микрометра, диаметр нормального эритроцита составляет  $7.2-7.5 \text{ мкм}$  - это нормоцит, эритроцит с диаметром менее  $6.5 \text{ мкм}$  называется микроцитом, а более  $8 \text{ мкм}$  - макроцитом. Однако существует мнение, что диаметр эритроцита не отражает в полной мере его размер, особенно при изменении его формы.

Таким образом различают различают 4 основные группы анемий: анемии вследствие кровопотери (постгеморрагические), анемии вследствие нарушения образования эритроцитов и гемоглобина, анемии связанные с костномозговой недостаточностью, анемии смешанные [16].

Анемия, вызываемая быстрой и массивной кровопотерей называется острой постгеморрагической, основными причинами которой являются значительные кровопотери при травмах и ранениях, сопровождающихся повреждением кровеносных сосудов, а также кровотечения из внутренних органов (желудочно-кишечные, почечные, легочные, из мочевого пузыря) и геморрагических диатезах, маточных кровотечениях разрывов аневриз-

матически измененных сосудов. Основным и первоначальным патогенетическим фактором является быстрое уменьшение общего объема циркулирующей крови - объема циркулирующих эритроцитов и плазмы. Резкое уменьшение объема циркулирующих эритроцитов обуславливает развитие острой гипоксии, ишемии органов и тканей, потеря плазмы вызывает появление симптоматики коллапса различной степени выраженности. В ответ на быструю и массивную кровопотерю развиваются компенсаторно-приспособительные реакции организма: гиперпродукция надпочечниками катехоламинов, увеличение секреции АДГ, активация системы РАА, что способствует мобилизации крови из депо. Кроме того, увеличивается продукция эритропоэтина, что стимулирует эритропоэз, также развивается гемодилюция.

Вследствие длительно и часто повторяющихся кровотечений развивается хроническая постгеморрагическая анемия, которые приводят к дефициту железа. Таким образом, хроническая постгеморрагическая анемия, по сути, является железодефицитной. Железодефицитная анемия - это анемия, обусловленная дефицитом железа в сыворотке крови, костном мозге и депо. Люди, страдающие скрытым дефицитом железа и железодефицитной анемией, составляют 15-20% населения Земли. Наиболее широко железодефицитная анемия распространена среди детей, подростков, женщин детородного возраста, пожилых людей [7,13].

Общепринято выделять две формы железодефицитных состояний: латентный дефицит железа и железодефицитную анемию.

Латентный дефицит железа характеризуется уменьшением количества железа в его депо и снижением уровня транспортного железа крови при еще нормальных показателях гемоглобина и эритроцитов. Для железодефицитной анемии характерно уменьшение всех метаболических фондов железа, в том числе и транспортного, снижение количества эритроцитов и гемоглобина. Хронические кровопотери являются одной из самых частых

причин железодефицитной анемии. Наиболее характерны необильные, но длительные кровопотери, которые незаметны для больных, но постепенно значительно снижают запасы железа и приводят к развитию анемии.

Наиболее частая причина железодефицитной анемии у мужчин и менеструирующих женщин является хроническое кровотечение из желудочно-кишечного тракта, причем нередко речь идет о небольших по объему, но длительных кровотечениях. Редкой, но важной причиной хронической кровопотери является анкилостомидоз - заболевание, вызываемое паразитическими червями из класса нематод - анкилостомидами. Далее они мигрируют в организме и в 12-перстной кишке превращаются в половозрелых особей, внедряются в стенку кишки, повреждают кровеносные сосуды подслизистой оболочки и вызывают хроническое кровотечение. Обитают анкилостомы в проксимальном отделе тонкой кишки, живут 5-6 лет и питаются кровью (каждый экземпляр потребляет от 0.3 до 1 мл крови в сутки). При изолированном легочном гемосидерозе имеется врожденный дефект - неполноценность эластического каркаса легочных сосудов или иммуноаллергическое их поражение, что приводит к кровоизлияниям в альвеолы, паренхиму легких. Поступившие в полость альвеолы эритроциты фагоцитируются альвеолярными макрофагами, из гемоглобина эритроцитов в макрофагах образуется гемосидерин. Железо гемосидерина не используется для эритропоэза, развивается истинная железодефицитная анемия[33].

В редких случаях кровопотери в замкнутые полости могут возникать при гломических опухолях замыкающих артерий, встречающихся в некоторых артериовенозных анастомозах легких, кишечника, желудка.

Гематурия с последующим развитием железодефицитной анемии может наблюдаться при ряде заболеваний мочевыводящих путей и почек - гематурическом варианте гломерулонефрита и пиелонефрита, IgA-нефропатии (болезни Бурже), мочекаменной болезни, поликистозе,

туберкулезе, амилоидозе почек, выраженном нефроптозе, внутрисосу-дистом гемолизе при болезни Маркиафава, гипернефроме, раке мочевого пузыря.

При любых вариантах геморрагического диатеза могут наблюдаться рецидивирующие кровотечения различной локализации: желудочные, кишечные, маточные, носовые, легочные, из почек и мочевыводящих путей, приводящие к развитию железодефицитной анемии.

Носовые кровотечения чаще всего служат причиной развития железодефицитной анемии у больных геморрагическими диатезами (наследственная геморрагическая телеангиэктазия - болезнь Рандю-Ослера, тромбоцитопатия, тромбоцитопеническая пурпура, гемофилия и др.), гипертонической болезнью и симптоматическими артериальными гипертониями.

В основе всех клинических проявлений железодефицитной анемии лежит дефицит железа, который развивается, как было сказано выше, в тех случаях, когда потери железа превышают его поступление с пищей (2 мг/сутки). Дефицит железа развивается последовательно и постепенно. Первоначально уменьшаются запасы железа в печени, селезенке, костном мозге, что получает отражение в снижении уровня ферритина в крови. На этой стадии происходит компенсаторное усиление всасывания железа в кишечнике и повышение уровня мукозного и плазменного трансферина. Содержание сывороточного железа еще не снижено, анемии нет. Однако в дальнейшем истощенные депо железа уже не способны обеспечить эритропоэтическую функцию костного мозга и, несмотря на сохраняющийся высокий уровень трансферина в крови, значительно снижаются содержание железа в крови (транспортное железо), синтез гемоглобина, развиваются анемия и последующие тканевые нарушения.

При дефиците железа снижается активность железосодержащих и железозависимых ферментов в различных органах и тканях, а также уменьшается образование миоглобина. В результате указанных нарушений и

снижения активности ферментов тканевого дыхания (цитохромоксидаз) наблюдаются дистрофические поражения эпителиальных тканей (кожи, ее придатков, слизистой оболочки, желудочно-кишечного тракта, нередко - мочевыводящих путей) и мускулатуры (миокарда и скелетной мускулатуры).

Снижение активности некоторых железосодержащих ферментов в лейкоцитах нарушает их фагоцитарную и бактерицидную функции и угнетает защитные иммунные реакции. Этому способствует также нарушение при дефиците железа образования лейкоцитами цитокинов, в частности интерлейкина-1), который играет важную роль в клеточном и гуморальном иммунитете и неспецифических защитных механизмах.

Анемии при нарушенной реутилизации железа называются железоперераспределительные анемии - это анемии, обусловленные нарушением перемещения железа из депо в плазму крови и далее к эритроцитам. При этом происходит своеобразное перераспределение железа: оно сосредоточено преимущественно в депо - местах хранения железа.

Известно, что для нормального гемопоеза организму требуется 25 мг железа в сутки. Из кишечника всасывается всего лишь 1-1.5 мг ежедневно. Остальное количество железа, необходимое для нормального эритропоеза, обеспечивается высокоэффективной повторной реутилизацией железа из разрушающихся эритроцитов[28,29].

При железоперераспределительных анемиях механизм реутилизации железа нарушается, макрофагальные клетки депо прочно удерживают железо, и оно не может в достаточной мере использоваться для синтеза гемоглобина в эритроцитах. Таким образом, при железоперераспределительной анемии нет истинного дефицита железа в организме, оно накапливается в депо в виде ферритина и гемосидерина в клетках макрофагальной системы.

Железоперераспределительные анемии занимают второе место по частоте среди всех анемий после железodefицитной анемии и развиваются при

следующих заболеваниях: острые и хронические инфекционно-воспалительные заболевания (особенно протекающие с нагноением) легких, почек, мочевыводящей системы, органов брюшной полости, костей (остеомиелиты); желчевыводящих путей; сепсис; туберкулез различной локализации; инфекционный; хронический лейкоз; ревматоидный артрит; онкологические заболевания (при отсутствии явных и скрытых кровотечений, метастазов в костный мозг, гемолиза);

Существует предположение, что при названных заболеваниях клетки макрофагальной системы значительно активируются, что способствует накоплению железа в депо [10,6,35].

Группа анемий, обусловленных нарушением синтеза ДНК в эритрокариоцитах вследствие дефицита витамина В<sub>12</sub> или фолиевой кислоты и характеризующихся мегалобластным типом кроветворения, называются мегалобластные анемии. При дефиците витамина В<sub>12</sub> развиваются следующие нарушения: недостаток кофермента витамина В<sub>12</sub> метилкобаламина приводит к нарушению синтеза тимидина, включаемого в ДНК, вследствие этого нарушается синтез ДНК и процессы митоза в клетках организма. Наиболее значительно страдают быстрорастущие ткани - клетки костного мозга, эпителий желудочно-кишечного тракта. Клетки костного мозга утрачивают способность к нормальному созреванию. Особенно выражены нарушения со стороны красного кроветворного ростка. Появляется большое количество мегалобластов - мегалобластный эритропоэз характеризуется задержкой созревания ядер эритрокариоцитов по сравнению со степенью гемоглобинизации цитоплазмы, сокращением продолжительности жизни красных кроветворных клеток, повышенным распадом мегалобластов в костном мозге.

Таким образом, дефицит витамина В<sub>12</sub> и, соответственно, кофермента метилкобаламина приводит к неэффективности гемопоэза с развитием мегалобластной анемии, лейкопении и тромбоцитопении. Кроме того,

дефицит метилкобаламина приводит к нарушению созревания эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта, обуславливает развитие атрофии слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника.

Фолиеводефицитная анемия относится к группе мегалобластных анемий. Развитие мегалобластного типа кроветворения обусловлено тем, что при дефиците фолиевой кислоты нарушается влияние витамина В<sub>12</sub> на синтез ДНК. Алиментарная недостаточность фолатов - частая причина фолиеводефицитной анемии. Известные этиологические факторы приобретенной апластической анемии:

1. Химические факторы: бензол, неорганические соединения мышьяка,
2. этилированный бензин (содержит тетраэтилсвинец), тяжелые металлы (ртуть, висмут и др.), хлорорганические соединения, инсектициды, пестициды.
3. Физические факторы: ионизирующая радиация и рентгеновское излучение.
4. Лекарственные средства: антибиотики (хлорамфеникол (левомицетин); метициллин; стрептомицин и др), сульфаниламиды,
5. нестероидные противовоспалительные средства и анальгетики (фенилбутазон (бутадион); индометацин; амидопирин; анальгин), препараты золота (для лечения ревматоидного артрита), антигематогенные средства (мерказолил; пропилтиоурацил) [16].

Таким образом, анемии делятся на постгеморрагические (железodeфицитные) и гемолитические, которые в свою очередь делятся на наследственные и приобретенные. Большинство видов малокровий обусловлено внешними причинами. Наследственные формы анемий возникают в результате мутаций гена, вызывающих нарушение мембран эритроцитов и изменяющих структуру и синтез гемоглобина [3, 28].

## **1.2. Биохимические и генетические особенности заболеваний крови.**

### **1.2.1. Генетические особенности заболеваний крови.**

Наличие разнообразных форм злокачественных опухолей, в том числе гемобластозов и факторов, вызывающих их свидетельствуют о множественных путях этих заболеваний и сложности интерпретации их этиологии. Однако на уровне клетки неоплазии – это явление наследственных и связано с изменением в генетическом материале клетки – ДНК.

Молекулярные исследования хромосомных участков, изменения которых обнаруживались при различных опухолях, привели к открытию многих генов, которые, участвуют в патогенезе гемобластозов. Эти гены можно разделить на две группы. Первые - онкогены. измененные гомологи нормальных клеточных генов (протоонкогенов). Гены второй группы - это гены, инактивация или потеря которых связаны с опухолевым ростом. Такие гены называют опухолевыми супрессорами. или антионкогенами.

Активация протоонкогенов (продукция активных онкопротеинов) может осуществляться различными путями: за счет хромосомных транс-локаций, в результате точковых мутаций или вследствие генной амплификации[13]. Хромосомные транслокации могут стать причиной развития двух вариантов генетических событий:

1. в результате транслокации протоонкоген попадает в зону влияния на него регуляторных элементов генов иммуноглобулинов и генов T-клеточных рецепторов. Происходит аномальная активация протоонкогена с превращением его в онкоген. Пример подобной активации - транслокация

2. в каждом из генов, участвующих в транслокации, происходит разрыв, и из фрагментов этих генов формируется так называемый 18 химерный ген, в дальнейшем продуцирующий химерный белок. Классический пример - транслокация (9; 22), при которой формируется новый химерный ген, участвующий в патогенезе хронического миелолейкоза.

Генная амплификация характеризуется увеличением копийности участка генома. В результате повторяющихся (закономерных, неслучайных) хромосомных делеций возникает инактивация генов - супрессоров

злокачественного роста. К настоящему времени идентифицировано около двадцати таких генов. К сожалению, гены супрессоры изучены значительно хуже, чем протоонкогены. При делециях происходит потеря генетического материала в 18 клетке, но поскольку в нормальной клетке хромосомы парные, при потере части одного гена утраченную функцию может взять на себя его аллель. Однако и оставшаяся копия может быть функционально неактивна за счет точечной мутации или делеций. Именно эти события нередко приводят к инактивации генов - супрессоров злокачественного роста. Обнаружение специфических хромосомных делеций имеет большое клиническое значение: они, как и несбалансированные транслокации, более характерны для солидных опухолей, чем для гемобластозов. Такие аномалии часто наблюдаются при вторичных (возникших после химио-, лучевой или комбинированной терапии) лейкозах и миелодисплазиях. Эти факты используются с диагностическими и дифференциально-диагностическими целями. Продуктами большинства генов, составляющих обе группы, являются так называемые факторы транскрипции - белки, связывающиеся с ДНК, и влияющие на ее транскрипцию. Анализ данных современной фундаментальной онкологии свидетельствует о том, что структурные и функциональные изменения факторов транскрипции, происходящие в результате хромосомных перестроек, играют важнейшую роль в лейкозогенезе [14,42].

Группа наследственных заболеваний, этиологическим фактором которых являются мутации в генах, кодирующих полипептидные цепи глобиновых белков называются гемоглобинопатией. При различных вариантах гемоглобинопатии гемоглобин либо приобретает неправильную форму, либо в его составе меняется соотношение глобиновых цепей. Известно, что глобин - это белок, содержащий четыре полипептидные цепи. Гемоглобин человека гетерогенен, что связано с различием его полипептидных цепей, В норме у взрослого человека 95%-98% всего гемоглобина составляет HbA, в состав

которого входят две  $\alpha$  и две  $\beta$  цепи. Таким образом, его формула записывается как HbA ( $\alpha_2; \beta_2$ ). От 2% до 2,5% приходится на долю HbA<sub>2</sub>, имеющего формулу  $\alpha_2\beta_2$  и лишь 0,1-2% гемоглобинов у взрослого человека составляет фетальный HbF( $\alpha_2; \gamma_2$ ). В период эмбриогенеза соотношение гемоглобинов бывает совершенно другим и, кроме того, присутствуют такие его формы, которые никогда не встречаются в постнатальном периоде. Например, у плода до 18-недельного возраста имеется Hb Gower 2 ( $\alpha_2; \epsilon_2$ ), в состав которого входит отсутствующая у взрослых  $\epsilon$ -полипептидная цепь[2].

С 20-ой недели внутриутробной жизни плода происходит постепенная замена этого типа гемоглобина на HbF ( $\alpha_2; \gamma_2$ ), который доминирует у плода и новорожденных детей. Замена фетального гемоглобина на гемоглобин A происходит в течение первого года жизни ребенка. Существует множество генетических механизмов возникновения заболеваний этой группы, обусловленных особенностями расположения генов глобиновых белков и сложным контролем их транскрипции. Для  $\alpha$ -цепи имеется два дублированных гена, расположенных на хромосоме 16p13.3-pter. Гены глобиновой цепи образуют на хромосоме 11p15.4-15.5 кластер. Последовательность генов соответствует этапам их экспрессии от периода эмбриогенеза до взрослого возраста -первым располагается ген  $\epsilon$ -цепи, затем два гена  $\gamma$ -цепей ( $\gamma$ -G и  $\gamma$ -A). Продукты этих генов вместе с  $\alpha$ -глобиновой цепью формируют различные типы гемоглобинов. Очередность такой экспрессии, по-видимому, регулируется генами контролирующих регионов, расположенных в промоторной области на некотором расстоянии от 5'-конца этого кластера. При наличии мутаций, обуславливающих снижение или полное прекращение экспрессии той или иной глобиновой цепи, возникает повышенная экспрессия других генов кластера. В результате образуются гемоглобины, не свойственные этому возрастному периоду.

Заболевания, при которых количество  $\alpha$ -или бета-глобинов уменьшено или они полностью отсутствуют и заменены в молекуле гемоглобина дру-

гими цепями, называют средиземноморскими лихорадками, или талассемиями (от греческого слова «таласса», которым в древности называли Средиземное море). В зависимости от нарушения синтеза  $\alpha$ - или глобиновых цепей выделяют  $\alpha$ - или  $\beta$  талассемии. Эти заболевания составляют значительную часть в структуре гемоглобинопатии и представлены множеством аллельных вариантов, возникающих в результате точковых мутаций в генах глобиновых цепей. К настоящему времени описано более 300 таких мутаций, большинство из них очень редки. Наиболее выраженные клинические проявления обусловлены мутациями, затрагивающими функционально значимые участки белковой молекулы (т.е. теми мутациями, которые нарушают формирование вторичной и третичной структуры глобина или аминокислотную последовательность в местах прикрепления термина или контактных цепей друг с другом. К наиболее распространенным аллельным вариантам гемоглобинопатии, помимо талассемий можно отнести серповидноклеточную анемию, метгемоглобинемию и эритроцитоз.

Группа заболеваний, обусловленных мутациями в генах  $\alpha$ -глобиновых цепей, как  $\alpha$ -талассемия, наиболее часто возникают крупные делеции, захватывающие 1,2,3 или 4 копии генов. Как указано выше, имеется четыре копии гена  $\alpha$ -цепей (по две для  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$  цепей). Клинические проявления  $\alpha$ -талассемии варьируют в зависимости от протяженности делеции. При наличии делеции, захватывающей одну копию генов, клинические проявления, как правило, не возникают, делеция двух копий приводит к возникновению микроцитоза, трех - обуславливает типичную клиническую картину заболевания в виде хронической гемолитической анемии и сопровождается образованием новых типов гемоглобинов, например HbH, состоящего из четырех цепей (Hb $\beta$  $\gamma$  $\delta$ ) Протяженная делеция, захватывающая 4 копии  $\alpha$ -глобиновых генов, приводит к полному отсутствию  $\alpha$ -цепей и образованию несовместимого с жизнью гемоглобина, состоящего из четырех цепей. В ряде случаев, при наличии мутаций, затрагивающих район  $\alpha$ -цепей,

важный для осуществления их контактов с бета-цепями, возникает тетрамер из двух  $\gamma$ - и двух  $\alpha$ -цепей. Типичные клинические проявления  $\alpha$ -талассемии у гетерозигот по мутации в цепях характеризуются хронической гемолитической анемией средней тяжести. Гемолиз эритроцитов возникает в результате перегрузки клеток эритроидного ростка и внутренних органов железом, что приводит к неэффективному эритропоэзу и оказывает повреждающее действие на мембрану эритроцитов. Анемия часто обостряется при возникновении интеркуррентных инфекций и приеме некоторых лекарственных препаратов, например, сульфаниламидов. У 80% больных возникает спленомегалия, а у 30% деформации скелета[18].

Группа заболеваний, обусловленных мутациями в генах глобиновых цепей, как  $\beta$ -талассемия в зависимости от типа мутации и наличия или отсутствия глобиновых цепей выделяют несколько клинико-генетических вариантов талассемий. Первый вариант обозначается как талассемия. Он возникает вследствие нонсенс-мутаций и сплайсинговых мутаций, а также мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания. Вторым вариантом - талассемия. Его причиной служат мутации в промоторной области гена, в 5'- и 3'-нетранслируемых регионах, ТАТА-, СААТ- и САССС-боксах. В результате таких мутаций происходит уменьшение или прекращение синтеза глобиновых цепей и замена их в молекуле гемоглобина.

Один из редких вариантов  $\beta$ -талассемии связан с персистенцией фетального гемоглобина, при котором не происходит его замена на гемоглобин взрослого. Известно несколько типов персистирующего фетального гемоглобина: 1) гемоглобин представлен двумя  $\gamma$ -цепями (G и A), при этом  $\delta$ - и бета-цепи отсутствуют; 2) гемоглобин в основном представлен  $\gamma$ G- и  $\delta$ -цепями, при этом ген  $\rho$ -цепи функционально активен; 3) гемоглобин представлен  $\gamma$ G- и  $\gamma$ A-цепями, а бета-цепи отсутствуют. Показано, также, что возникновение симптомов талассемии (так называемых  $\gamma$ -, бета-талассемий) может быть обусловлено делецией в регуляторном элементе

глобиновых генов. Предполагается, что этот регион, обозначаемый аббревиатурой LCR, находится на расстоянии 100 т.п.н. от кластера глобиновых генов и контролирует его экспрессию в ходе развития.

Генная мутация, вызывающая серповидно-клеточную анемию, вероятно, возникла спонтанно в различных географических районах, это предположение основывается на рестрикционном анализе эндонуклеазы. Эти вариации встречаются среди населения Камеруна, Сенегала, Бенина, народов банту и азиатов Саудовской Аравии. Их клиническое значение состоит в том, что для некоторых из них характерен более высокий уровень HbF, например, при мутации, которая распространена в Сенегале и Саудовской-азиатском регионе, заболевания, как правило, имеет более мягкую форму[15].

У людей, гетерозиготных по HgbS (носители заболевания), проблемы, которые возникают из-за полимеризации - незначительные, ведь нормальная аллель может производить более 50% гемоглобина. У лиц, гомозиготных по HgbS, наличие длинных HbS полимеров приводит к искажению формы эритроцитов. Форма двояковогнутого диска с гладкой поверхностью изменяется на неровную, с большим количеством шипов, это приводит к тому, что клетки становятся хрупкими и лопают в капиллярах.

У носителей симптомы заболевания появляются только тогда, когда уровень кислорода в воздухе очень понижен (например, на большой высоте) или во время сильного обезвоживания организма. Обычно, эти кризисные ситуации возникают примерно 0,8 раз в год у одного пациента. Серповидно-клеточная анемия возникает тогда, когда в седьмой аминокислоте (если считать метионин) - глутаминовая кислота заменяется валином, что вызывает изменение ее структуры и функций.

Это нарушение вызвано мутацией одного нуклеотида (происходит замена аденина (А) на тимин (Т)) в гене β-глобина. Это приводит к тому, что в 6 позиции глутамат заменяется валином. Гемоглобин S, который образуется в результате этой мутации, называют HbS, в отличие от нормального

гемоглобина, который называется HbA. То есть, исследуемое генетическое заболевание связано с мутацией одного нуклеотида и, соответственно, изменением последовательности кодона из GAG (ГАГ) на GTG (ГТГ).

Как правило, это доброкачественные мутации, которые существенно не влияют на вторичную, третичную, или четвертичную структуру гемоглобина, при нормальной концентрации кислорода. В условиях низкой концентрации кислорода происходит процесс полимеризации HbS. Деоксиформа гемоглобина подвергается воздействию гидрофобного участка между E и F спиральями[21,24,14].

Гидрофобные остатки валина на 6 позиции бета-цепи гемоглобина могут связываться с этими гидрофобными участками, в результате чего молекулы гемоглобина S теряют способность растворяться и образуют, так называемый, волокнистый осадок. Аллель ответственная за развитие серповидно-клеточной анемии - аутосомно-рецессивная и расположена на коротком плече 11 хромосомы. У человека, который наследует дефектный ген от отца и матери - развивается заболевание, тогда как человек, который получает одну дефектную копию гена, а одну - нормальную - остается здоровым, однако он является носителем заболевания.

Если оба родителя являются носителями серповидно-клеточной анемии, то вероятность передачи ребенку заболевания составляет 25%, а вероятность того, что их потомок будет носителем составляет - 50%. Но, поскольку ответственный ген не полностью рецессивный, то в организме носителей может образовываться некоторое количество серповидно-клеточных эритроцитов, однако их количество не настолько велико, чтобы вызвать симптомы болезни, однако достаточное для того, чтобы больные были стойкими к действию малярии. Именно поэтому у гетерозиготных лиц уровень приспособления – выше, чем у гомозиготных. Это явление известно под названием гетерозиготное преимущество.

Именно через это преимущество, болезнь по-прежнему очень распространена, особенно часто она встречается среди населения в связи с адаптивным преимуществом гетерозигот, особенно среди людей, предки которых происходят из тех территорий, где малярия была широко распространена, в частности, из Африки, Средиземноморья, Индии и Ближнего Востока. Ранее, эпидемии малярии часто наблюдались на территории Южной Европы, однако это заболевание было полностью ликвидировано здесь в середине XX века и сейчас не встречается за исключением редких спорадических случаев.

Возбудитель малярии имеет сложный жизненный цикл, часть которого проходит в эритроцитах (красных кровяных тельцах). У носителей серповидно-клеточной анемии, наличие малярийных паразитов приводит к тому, что измененные кровяные тельца (с дефектным типом гемоглобина) разрываются преждевременно, вследствие чего плазмодий (возбудитель малярии) не может воспроизвести эти клетки.

Кроме того, полимеризация гемоглобина влияет в первую очередь на способность паразита переваривать Hb. Таким образом, в тех районах, где распространена малярия, шансы людей на выживание в действительности увеличиваются, если они являются носителями серповидно-клеточной болезни[36].

### **1.2.3. Биохимические особенности заболеваний крови.**

Анемии – патологические состояния, характеризующиеся снижением гемоглобина или количества эритроцитов в крови. Они всегда являются одним из симптомов общего заболевания. Наряду с часто встречающимися и легко диагностируемыми формами анемий имеются редкие анемические синдромы.

По патогенезу выделяют 2 основные группы анемий:

1. постгеморрагические (железодефицитные);
2. гемолитические, обусловленные повышением кроверазрушением.

Постгеморрагические анемии делятся на острые и хронические. Причинами острой анемии от кровопотери являются различные внешние травмы (ранения), сопровождающиеся повреждением кровеносных сосудов, или кровотечения из внутренних органов. Чаще всего наблюдаются желудочно-кишечные кровотечения, кровотечения в брюшную полость (разрыв фаллопиевой трубы при внематочной беременности), почечные, легочные (туберкулез, абсцесс), маточные, а также кровотечения из различных органов при геморрагических диатезах. Уже при однократной острой кровопотере отмечается преходящее снижение уровня железа в плазме. При достаточных запасах железа в депо, его уровень в плазме быстро выравнивается; тогда как, при истощенных - уровень железа в плазме остается низким (сидеропения) и развивается картина гипохромной железодефицитной анемии[38].

Хроническая постгеморрагическая анемия развивается в результате либо однократной, но обильной кровопотери, либо незначительных, но длительных повторных кровопотерь.

Чаще всего хроническая постгеморрагическая анемия наблюдается при кровотечениях из желудочно-кишечного тракта (язва, рак, геморрой), почечных, маточных. Даже незначительные кровопотери при язвенных или неопластических процессах в желудочно-кишечном тракте или ничтожные геморроидальные кровотечения, повторяющиеся изо дня в день, способны привести к тяжелому малокровию.

Картина крови железодефицитной анемии характеризуется с резким снижением цветного показателя (0,6—0,4); происходят дегенеративные изменения эритроцитов, которые превалируют над регенеративными; наблюдается гипоцитохромия и микроцитоз, пойкилоцитоз и шизоцитоз эритроцитов; лейкопения (если нет особых моментов, способствующих развитию лейкоцитоза); сдвиг нейтрофильного ряда влево и относительный лимфоцитоз; количество тромбоцитов нормально или несколько понижено .

Сыворотка крови больных хронической постгеморрагической анемией отличается бледной окраской вследствие уменьшенного содержания билирубина (что указывает на пониженный распад крови). Их особенностью является также резкое снижение уровня сывороточного железа, определяемого нередко лишь в виде следов.

Группа железодефицитных анемий объединяет многочисленные, различной этиологии, анемические синдромы, основным патогенетическим фактором которых является недостаток железа в организме (sideropenia, гипосидероз).

Гипосидероз в широком смысле этого слова означает не только анемию на почве нарушения гемоглобинообразования. Истощение тканевых резервов железа приводит к расстройству окислительно-восстановительных процессов в тканях, что выражается в виде трофических нарушений со стороны эпителиальных покровов кожи (сухость), ногтей (ненормальный рост, койлонихия), волос (выпадение) и слизистых оболочек — языка (атрофический глоссит), пищевода (дисфагия), носоглотки (зловонный насморк — атрофический ринит, озена), извращении вкуса (геофагия, *pica chloratica*) и обоняния. Причинами развития гипосидероза могут быть как экзогенные факторы — алиментарная недостаточность железа, так и эндогенные причины, к которым относят: повышенные потери или повышенное потребление, а также недостаточное усвоение железа. К патологическим состояниям, нередко сопровождающимся развитием эндогенной недостаточности железа, следует отнести различные хронические инфекции (туберкулез), интоксикации (азотемия), гиповитаминозы (особенно С-гиповитаминоз), гипотиреозы, злокачественные новообразования, а также нарушение процесса ионизации железа (ахлоргидрия, дефицит витамина С) и нарушение кишечной абсорбции (энтерит, резекция кишечника)[5,8].

В результате сочетанного влияния всех факторов возникает состояние недостаточности железа в организме, определяемое по низкому уровню сывороточного железа (сидеропения) и гипохромии эритроцитов (низкий цветной показатель). Что касается размеров эритроцитов, то при «чистой» форме железодефицитной анемии преобладает микроцитоз. Наблюдаемая при некоторых патологических состояниях, в частности у больных хроническим энтеритом или с резецированным тонким кишечником, «биморф-ная» анемия гипохромного типа с макроцитозом эритроцитов указывает на сочетание гипосидероза с недостаточностью других факторов (витамина В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты). Все железодефицитные анемии гипохромны. [13 ]

В настоящее время в основу классификации гемолитических анемий положено разделение на наследственные и приобретенные формы. К наследственным формам относят формы, связанные с нарушением мембраны эритроцитов, с дефицитом активности ферментов, с изменениями структуры или синтеза гемоглобина; к приобретенным - формы малокровия, связанные с воздействием антител, изменением структуры мембраны эритроцитов; с механическим повреждением оболочки эритроцитов; дефицитом витаминов; разрушением эритроцитов паразитом .

Наследственные формы анемии передаются по доминантному аутосомному типу, встречаются в основном гетерозиготные формы заболевания и проявляются в любом возрасте, чаще в детско-подростковом периоде и у взрослых. Морфологические изменения эритроцитов у больных с наследственным микросфероцитозом сопровождаются и некоторыми функциональными нарушениями. Наблюдается повышение проницаемости натрия через мембрану эритроцитов, что способствует накоплению в клетке воды, вследствие чего эритроциты приобретают сферическую форму.

Количество лейкоцитов и тромбоцитов нередко находится в пределах нормы. При гемолитических кризах иногда наблюдается небольшой лейкоцитоз со сдвигом формулы влево. При наслоении гиперспленизма воз-

можно умеренная лейкоцитопения и тромбоцитопения. Количество ретикулоцитов бывает увеличенным и обычно находится в пределах 50—100%. В некоторых случаях после гемолитического криза содержание ретикулоцитов может превысить это число в несколько раз.

У больных с наследственной микросфероцитарной гемолитической анемией наблюдается понижение осмотической резистентности эритроцитов (от — 0,7—0,8, и до— 0,3— 0,12) и повышение аутогемолиза, корригируемое глюкозой. Аналогичные сдвиги имеют место и при других (аутоиммунных и несфероцитарных) формах гемолитических анемий. В группе гемолитических анемий, обусловленных нарушением мембраны эритроцитов, кроме наследственного микросфероцитоза, рассматриваются редко встречающиеся наследственный эллиптоцитоз, наследственный стоматоцитоз, гемолитическая анемия, сочетающаяся с Rh-null фенотипом. Наследственный эллиптоцитоз наследуется по аутосомно-доминантному типу и имеет формы бессимптомного носительства патологического гена и клинически явной эллиптоцитарной гемолитической анемии. Первая встречается чаще, вторая — составляет не многим более 10% всех выявляемых случаев наследственного эллиптоцитоза. Предполагается, что эллиптоцитарная гемолитическая анемия, по аналогии с наследственным микросфероцитозом, связана с нарушением структуры белка мембраны эритроцитов[38,41,25].

По-видимому, бессимптомный эллиптоцитоз обусловлен гетерозиготным характером наследования аномального гена, а эллиптоцитарная гемолитическая анемия — гомозиготным наследованием последнего. Заболевание имеет хроническое течение, которое усугубляется в период гемолитических кризов, их частыми причинами является инфекции.

К другим наследственным формам гемолитических анемий относят энзимопатии, среди которых чаще всего встречается дефицит активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ).

Заболевания, связанные с наследственным нарушением синтеза гемоглобина, получили название гемоглобинопатии. Они делятся на количественные (структурные) и качественные формы. Количественные гемоглобинопатии (гемоглобинопатии S, C, D, E носительства нестабильных гемоглобинов и гемоглобинов с повышенным сродством к кислороду и др.) сопровождаются изменением первичной структуры гемоглобина; при них могут нарушаться стабильность и функции гемоглобина. При качественных гемоглобинопатиях структура гемоглобина бывает нормальной и лишь снижается скорость синтеза тех или иных полипептидных цепей гемоглобина. Известно более 250 структурных вариантов гемоглобина, большая часть которых является результатом замены единственной аминокислоты в  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепях. Многие замещения аминокислот в молекуле гемоглобина оказываются доброкачественными. Гемоглобинопатии согласно установленной классификации делят :

1. Г  
 емоглобинопатии, обусловленные аномалией первичной структуры молекулы гемоглобина («качественные» гемоглобинопатии), к ним относят: серповидноклеточная болезнь, включающая собственно серповидноклеточную анемию и ее варианты (S-гемоглобинопатия); гомозиготные гемоглобинопатии (СС,ЕЕ), характеризующиеся доброкачественным течением.
2. Г  
 емоглобинопатии, вызванные нарушением синтеза полипептидных цепей, входящих в состав нормальных гемоглобинов («количественные» гемоглобинопатии или талассемии).
3. Гемоглобинопатии, обусловленные двойными гетерозиготными состояниями по гену талассемии и гену одной из «качест

венных» гемоглобинопатии (например, гемоглобиноз S-талассемия, микродрепаноцитоз).

С помощью современных методов исследования можно диагностировать три последовательных этапа железодефицитной анемии - прелатентный и латентный дефицит железа и собственно железодефицитную анемию.

Прелатентный дефицит железа характеризуется следующими признаками: анемия отсутствует, уровень гемоглобина нормальный; сидеропенический синдром отсутствует, так как тканевой фонд железа сохранен; уровень сывороточного железа нормальный; преобладание в мазке периферической крови среди эритроцитов микроцитов - эритроцитов уменьшенного диаметра; анизоцитоз - неодинаковая величина эритроцитов и пойкилоцитоз - различная форма эритроцитов; нормальное содержание ретикулоцитов в периферической крови, однако, при выраженном кровотечении и после лечения препаратами железа возможно увеличение количества ретикулоцитов; тенденция к лейкопении; количество тромбоцитов обычно нормальное, однако при значительной кровопотере возможен умеренный тромбоцитоз; при выраженной анемии возможно умеренное увеличение СОЭ (до 20-25 мм/ч).

Характерно снижение уровня сывороточного железа и ферритина. Могут отмечаться также изменения, обусловленные основным заболеванием.

Иммунологический анализ крови - как правило, существенных изменений не наблюдается, однако нередко выявляется снижение фагоцитарной функции лейкоцитов.

Исследование периферической крови выявляет снижение содержания гемоглобина, причем, как указывает Л. И. Идельсон (1985), «в юности анемия в большинстве случаев бывает сравнительно небольшой - 80-90 г/л, однако постепенно содержание гемоглобина снижается до 50-60 г/л». Количество эритроцитов снижено, отмечается выраженное снижение

цветового показателя, содержание ретикулоцитов обычно нормальное или несколько снижено. Количество лейкоцитов и тромбоцитов, как правило, нормальное, лейкоцитарная формула не изменена. При исследовании мазка периферической крови характерны гипохромия эритроцитов, анизоцитоз (встречаются эритроциты как малых, так и крупных и нормальных размеров), пойкилоцитоз, обнаруживаются полихроматофильные зернистые мишеневидные эритроциты. Содержание протопорфирина в эритроцитах снижено[25,19].

В пунктате костного мозга обнаруживается гиперплазия красного кроветворного ростка (увеличение количества эритрокариоцитов), выявляется при специальной окраске большое количество кольцевидных сидеробластов - эритробластов, перегруженных железом (оно располагается в митохондриях в виде кольца вокруг ядра эритробласта)[31,36,17].

Характерно значительное увеличение содержания в крови железа и ферритина; при поражении печени (вторичный гемохроматоз) повышается содержание в крови билирубина, аминотрансфераз, щелочной фосфатазы и снижается уровень альбуминов; при поражении поджелудочной железы появляется гипергликемия.

При развитии надпочечниковой недостаточности снижается содержание натрия, хлоридов, глюкозы, повышается уровень калия.

Поражение кроветворной системы является важнейшим проявлением свинцовой интоксикации и характеризуется следующими изменениями общего анализа крови: гипохромная анемия, обычно умеренно выраженная, уровень гемоглобина обычно редко опускается ниже 80 г/л, однако при тяжелой интоксикации падение уровня гемоглобина может быть значительным; значительное повышение содержания ретикулоцитов в периферической крови (до 3-8%); полихроматофилия и базофильная пунктуация эритроцитов; появление небольшого количества мишеневидных эритроцитов.

Изменений лейкоцитарной формулы, количества тромбоцитов и СОЭ, как правило, нет.

В миелограмме выявляется резко выраженная гиперплазия красного кроветворного ростка (увеличение количества эритрокариоцитов, особенно молодых форм, с появлением в них базофильной зернистости), увеличивается количество обычных и кольцевидных сидеробластов.

При поражении печени отмечается увеличение активности аминотрансфераз и содержания билирубина (конъюгированного и неконъюгированного). Следует подчеркнуть, что при развитии гемолитического синдрома гипербилирубинемия развивается преимущественно за счет неконъюгированного билирубина. Исследование периферической крови и костного мозга имеют решающее значение в диагностике заболевания.

Характерно развитие гиперхромной макроцитарной анемии (цветовой показатель более 1.1), однако следует подчеркнуть, что в редких случаях анемия может быть нормохромной. Эритроциты большие (макроциты), средний объем эритроцитов (MCV) больше 95 мкм<sup>3</sup> (110-160 мкм<sup>3</sup>), диаметр эритроцитов больше 10-12 мкм (макроциты, мегалоциты), характерен также анизоцитоз (разная величина эритроцитов, наряду с макроцитами имеются эритроциты нормальных размеров), пойкилоцитоз (изменение формы эритроцитов). Во многих мегалоцитах (макроцитах) обнаруживаются остатки ядра. Часто в периферической крови обнаруживаются нормобласты, количество ретикулоцитов у большинства больных снижено или нормальное. Количество лейкоцитов снижено, определяются нейтропения, эозинопения, относительный лимфоцитоз [19].

Для В<sub>12</sub>-дефицитной анемии чрезвычайно характерно появление больших сегментоядерных нейтрофилов с полисегментированным ядром (гиперсегментированные нейтрофилы). Количество тромбоцитов снижено, однако геморрагических проявлений, как правило, нет, потому что тромбоцитопения не достигает критической величины. СОЭ обычно не увели-

чена, но при тяжелой степени анемии возможно небольшое увеличение (до 18-20 мм/ч). Часто отмечается умеренное повышение содержания железа в сыворотке крови (преимущественно при развитии синдрома гемолиза). При развитии гемолиза в моче выявляется уробилин, в кале - увеличено количество стеркобилина.

При анемии гипо и апластической наблюдается выраженное снижение количества эритроцитов и гемоглобина; анемия у большинства больных нормохромная, нормоцитарная (при выраженном геморрагическом синдроме возможно развитие гипохромной анемии); характерно также отсутствие или резкое снижение количества ретикулоцитов (арегенераторная анемия); наблюдается лейкопения за счет гранулоцитопении с относительным лимфоцитозом; чрезвычайно характерна тромбоцитопения. Таким образом, наиболее существенным лабораторным проявлением гипо- и апластической анемии является панцитопения. СОЭ, как правило, увеличена. Исследование фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов выявляет значительное ее снижение.

При выраженном геморрагическом синдроме и почечном кровотечении наблюдается микро- или макрогематурия. При развитии гемолитического синдрома в моче обнаруживается уробилин.

Содержание сывороточного железа повышено, процент насыщения железом трансферина значительно увеличен. При развитии синдрома гемолиза увеличено содержание в крови неконъюгированного неконъюгированного (непрямого) билирубина, возможно также небольшое повышение активности аланиновой аминотрансферазы [27,42].

Характерными особенностями при наследственных гемолитических анемиях являются: выраженная гипохромная анемия (уровень гемоглобина падает до 30-40 г/л), цветовой показатель снижается до 0.5-0.8; анизоцитоз эритроцитов, присутствие микроцитов, фрагментированных пойкилоцитов, мишеневидных эритроцитов, наличие базофильной зернистости

эритроцитов, иногда овалоцитов. Мишеневидные эритроциты - это плоскишеневидный эритроцит, бледные эритроциты с центральным расположением гемоглобина в виде мишени; у мишеневидных эритроцитов и овалоцитов повышена осмотическая стойкость; появление в периферической крови нормобластов, иногда - эритробластов; увеличение количества ретикулоцитов; лейкопения, лимфоцитоз, при гемолитических кризах появляется нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

Обнаруживается уробилин, во время обострения заболевания возможна протеинурия. Гипербилирубинемия вследствие преимущественного повышения неконъюгированного билирубина, высокая концентрация сывороточного железа и ферритина, повышение содержания ЛДГ. Электрофорез НЬ на ацетатцеллюлозной пленке и в других средах с последующим количественным определением гемоглобиновых фракций - для гомозиготной  $\rho^0$ -талассемии характерно отсутствие НЬА (НЬА<sub>j</sub>), при  $\rho^+$ -талассемии - резкое снижение его уровня, в том и другом случае выявляются высокие уровни НЬF, некоторое увеличение содержания НЬА<sup>^</sup> при гомозиготной  $\beta^0$ -талассемии определяется только НЬF [34,15,24].

## **2. Место, объекты и методы исследований.**

### **2.1. Место исследований.**

Исследования проводились в Самаркандском Областном многопрофильном медицинском центре в отделении гематологии.

В этом центре имеется лабораторный отдел, в котором принимается кровь пациентов на общий и биохимический анализ крови, так же анализы на мачу, калл и т.д. Это отделение позволяет определить точный диагноз болезни пациентов, которое направляет их в соответствующие отделения для тщательного обследования и дальнейшего лечения под строгим наблюдением врачей. Мы проводили исследования в отделении гематологии, в котором принимают лечение больные с разными формами заболеваний крови: анемия, лейкоз, нелейкемические гемобласты, лучевая болезнь, эритремия и эритроцитозы.

### **2.2. Объекты исследований.**

Объектами исследований служила периферическая кровь больных разными формами анемий. Наше исследование было направлено на изучение биохимических и генетических особенностей заболеваний крови на примере анемий. На обследование были взяты 8 больных: с диагнозом анемии смешанного генеза тяжелой степени – 4 (1 мужчина, 3 женщины) и с диагнозом хронической постгеморрагической анемией – 4 (2 мужчины, 2 женщины). Возраст больных составил от 40-70 лет. Больные являются жителями Ургутского, Тайлакского, Джуминского районов, кишлаков Тушан Дустлик Хужа-соат и жителями города Самарканда.

### **2.3. Методы исследований.**

Биохимические исследования проводились следующими методами:

1. Г  
 емиглобинцианидный метод. Основан на превращении гемоглобина в цианметгемоглобин (стойкое соединение) при добавлении к крови реактива. Концентрацию цианметгемоглобина измеряют фотометрически. Его принцип сводится к следующему: гемоглобин, взаимодействуя с ацетонциангидрином, в присутствии железосинеродистого калия  $K_3[Fe(CN)_6]$  образует гемиглобинцианид красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию гемоглобина в пробе крови. Образующийся с ацетонциангидридом окрашенный цианмет-гемоглобин (гемиглобинцианид) определяют колориметрически. Для этого в пробирку к 5 мл трансформирующего раствора, содержащего указанные реактивы (железосинеродистый калий и ацетонгидрид), добавляют 0,02 мл крови. При этом кровь разводится в 251 раз. Оставляют пробирки на 10 мин при комнатной температуре. Фотометрируют при зеленом свето-фильтре (длина волны 500-560 нм) в кювете с толщиной слоя 10 мм против дистиллированной воды. Стандартный раствор фотометрируют при тех же условиях, что и опытную пробу. Приготовленные разведения фотометрируют против дистиллированной воды («холостая» проба). Концентрацию гемоглобина крови рассчитывают по формуле:

$$Hb = \frac{E_{oo}}{E_{cc}} * C * K * 0,01$$

где  $E_{оп}$  - экстинкция опытной пробы;

$E_{ст}$ -экстинкция стандартного раствора;

C - концентрация гемиглобинцианида в стандартном растворе, мг%;

K - коэффициент разведения крови;

0,01-коэффициент для пересчета в мг/% в г/л.

2.

М

етод подсчета эритроцитов в счетной камере. В строго определенном объеме камеры подсчитывают под микроскопом клеточные элементы, а затем производят пересчет полученного результата на 1 мкл крови. Кровь предварительно разводят с целью уменьшения числа клеток, подлежащих счету. Самым удобным и достаточно точным является способ разведения крови в пробирки. Для этого берут 0,02 мл крови, разведенной в 200 раз в 4,0 мл изотонического раствора натрия хлорида. Перед заполнением камеры взвесью крови в изотоническом растворе содержимое пробирки несколько раз встряхивают. Пипеткой набирают небольшой объем взвеси крови и выпускают 1–2 капли на фильтровальную бумагу. После этого подносят каплю разведенной крови к краю покровного стекла, следя за тем, чтобы кровь равномерно заполняла всю поверхность камеры с сеткой, не затекая в боковые бороздки. После заполнения камеры ее оставляют на 1–2 минуты в горизонтальном положении для оседания эритроцитов. Подсчет эритроцитов проводят при малом увеличении микроскопа (например объектив 8х, окуляр 10х), в несколько затемненном поле зрения (при закрытой диафрагме и опущенном конденсоре). Эритроциты подсчитывают в 5 расположенных по диагонали сетки квадратах, разделенных на малые, т. е. в 80 малых квадратах. Количество эритроцитов в 1 мкл ( $1 \text{ мм}^3$ ) крови рассчитывают по следующей формуле  $X = a \times 10^4$ , т. е. количество эритроцитов в 1 мкл (X) равно числу форменных элементов крови, подсчитанных в 80 малых квадратах, умноженному на  $10^4$ .

3.

М

икрометод в модификации Панченкова – для определения СОЭ. Принцип метода состоит в том, что смесь крови с цитратом при стоянии разделяется на два слоя: нижний – эритроциты, верхний –

плазма. При этом СОЭ, т.е. величина столбика плазмы, бывает различной в зависимости от изменения физико-химических свойств крови. Для определения СОЭ перед использованием химически чистый капилляр промывают цитратом натрия и заполняют им пробирку на  $\frac{1}{4}$  (до метки 0,75). Кровью набирают полный капилляр и переносят в пробирку с цитратом. При этом получают соотношение крови и цитрата 4:1. Перемешивают содержимое пробирки и набирают до метки 0 смесь крови и цитрата. Капилляр устанавливают в штатив строго вертикально. Через час отмечают скорость оседания эритроцитов по высоте отстоявшегося слоя плазмы в миллиметрах.

4. М
- етод подсчета в камере Горяева и подсчета в мазках крови по Фанио-используются при подсчете количества тромбоцитов. Для подсчета тромбоцитов в камере исследуемую кровь разводят в 200 раз, для чего в сухую пробирку наливают 4 мл 1% раствора оксалата аммония. Перемешивают и оставляют на 25-30 минут для гемолиза эритроцитов и затем заполняют счетную камеру. Производят подсчет тромбоцитов в 25 больших квадратах. Расчет производят по формуле:  $X = a * 2000$ , где  $X$  – число тромбоцитов в 1 мкл крови;  $a$  – число тромбоцитов, сосчитанных в 25 больших квадратах. Метод подсчета тромбоцитов по Фанио основан на подсчете числа тромбоцитов в окрашенных мазках крови на 1000 эритроцитов с расчетом на 1 мкл (или 1 л) крови, исходя из содержания в этом объеме количества эритроцитов. Капилляр Панченкова промывают 14% раствором сульфата магния или 6% раствором этилендиамин-тетраацетата натрия (ЭДТА). Набирают реактив до метки 75 и переносят его в серологическую пробирку. Кровь из пальца берут тем же капилляром до метки 0 и перемешивают ее с реактивом. Одновременно берут кровь для подсчета эритроцитов. Из смеси крови с реактивом готовят тонкие мазки, высушивают их на

воздухе, подписывают, фиксируют и окрашивают краской Романовского в течение 1-2 ч, Краску смывают водопроводной водой, мазки высушивают на воздухе. При окраске по Романовскому тромбоциты окрашиваются в фиолетовый цвет, эритроциты - в розовый. Окрашенный мазок микроскопируют с иммерсионной системой (ок. 7 или 10, об. 90), конденсор поднят, диафрагма открыта. Иммерсионное масло наносят на край мазка в наиболее тонкой его части, ближе к «метелочке». Подсчет эритроцитов и тромбоцитов ведут одновременно, при этом прибегают к ограничению поля зрения, для чего в окуляр вкладывают кружок из черной бумаги с прорезанным посередине его ромбическим отверстием. В ограниченном поле зрения должно быть видно около 50 эритроцитов. Среди них располагаются отдельные тромбоциты, которые встречаются не в каждом поле зрения. Сосчитав 1000 эритроцитов, суммируют общее количество встретившихся тромбоцитов. Определяют количество эритроцитов в 1 л крови. Количества тромбоцитов рассчитывают по формуле  $X = a \cdot v / 1000$ , где  $x$ -количество тромбоцитов в 1 л крови;  $a$ -количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов;  $v$ -количество эритроцитов в 1 л крови[9,41].

5. П  
одсчет лейкоцитов в счетной камере Горяева – используют для подсчета количества лейкоцитов. Каплю крови, разведенной в 20 раз раствором уксусной кислоты, помещают в подготовленную счетную камеру Горяева. Заполненную камеру оставляют на 1 минуту для оседания лейкоцитов, а затем устанавливают на столик микроскопа и при малом увеличении подсчитывают лейкоциты в 100 больших квадратах сетки Горяева, не разделенных на малые квадраты и полосы. Расчет общего количества лейкоцитов проводят по формуле  $X = a \times 50$ , т.е., количество лейкоцитов в 1 мкл равно числу клеток, посчитанных в

100 больших квадратах, умноженному на 50. Под-счет лейкоцитарной формулы (процентное соотношение различных видов лейкоцитов в периферической крови) проводят при иммерсионной микроскопии окрашенных по Романовскому-Гимзе (смесь краски азур II, водорастворимого эозина, метиленового спирта и эозина) мазков. Эта окраска позволяет хорошо дифференцировать ядро и цитоплазму. Микроскопию мазков проводят по следующей методике. Мазок передвигают от верхнего края к нижнему, затем отодвигают на 2–3 поля зрения вдоль края и идут в обратном направлении до верхнего края и т. д. Идентифицируют и подсчитывают не менее 100 лейкоцитов. Если при этом обнаруживаются какие-либо отклонения от нормы (появление дегенеративных форм клеток, не выявляемых у здорового человека, изменение нормального соотношения различных типов лейкоцитов), обязательно просматривают еще 100 лейкоцитов по описанной методике. Полученные результаты регистрируют с помощью клавишного счетчика[39,21].

### **3. Результаты исследования.**

#### **3.1. Изучение биохимических показателей периферической крови больных разными формами анемий.**

При многих острых и хронических заболеваниях внутренних органов оценка результатов биохимического исследования крови, особенно в динамике- в процессе развития болезни играет большую диагностическую и прогностическую ценность, изменения различных биохимических показателей, являясь в большинстве случаев неспецифическими, позволяют судить о характере и степени нарушения процессов метаболизма как в целом организме, так и в отдельных органах.

Анемии- патогенетическое состояние, характеризующиеся снижением гемоглобина или снижением эритроцитов, вызванные конкретными факторами. Немногие анемии обусловлены дефектами самого эритропоэза (гемолитические, апластические), большинство из них обусловлены внешними причинами. Часто малокровие имеет смешаную природу железододефицитная анемия, которая может переходить на хроническую постгеморагическую анемию, так же различают мегалобластные анемии (рисунок-3.1;3.2;3.3; 3.4.)[23].

Мы изучали биохимические показатели крови больных с разными формами анемии, проходивших обследование и последующее лечение в отделении гематологии Областного Многопрофильного центра. На обслед-

дование было взято 8 больных: 4 с диагнозом железодефицитной анемией и 4 с диагнозом постгеморагической анемией. Возраст больных составил 20-40 лет. Результаты исследования приведены в таблицах (таблица-3.1;3.2).

Изучение и анализ гемограмм больных железодефицитной анемией показал достоверные снижение гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, что связано с анемическим и гемморагическим синдромами. Более чем в 3 раза увеличена СОЭ ( скорость оседания эритроцитов). Показателями железодефицитной анемии является содержание сывороточного железа, трансферрина и ферритина, количество которых резко снижено в 2-4 раза по сравнению с контрольной группой. Увеличено количество нейтрофилов, в 2 раза уменьшено содержание моноцитов (рисунок-3.5;3.6). Дефицит железа снижает устойчивость организма к инфекционным заболеваниям, так как страдают ферменты тканей.

Постгеморагическая анемия характеризуется значительной кровопотерей при травмах и ранениях, сопровождающихся повреждением кровеносных сосудов, а также кровотечения из внутренних органов (желудочно-кишечные, почечные, легочные, из мочевого пузыря) при заболеваниях и геморрагических диатезах, маточные кровотечения, разрывы аневризматически измененных сосудов (рисунок-3.7).

Изучение и анализ периферической крови больных постгемморрагической анемией характеризуется лейкопенией и тромбоцитопенией, резким снижением содержания эритроцитов, увеличением содержания лимфоцитов, что связано с усилением иммунной системы организма. Содержание сывороточного железа снижено, но достоверно не отличается от этого показателя в контрольной группе.

Таким образом изучение и анализ гемограмм больных постгемморрагической и железодефицитной анемиями показал достоверное снижение уровня гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, что свидетельствует эритропении, лейкопении и тромбоцитопении, а также снижение

трансферрина и ферритина в 2-3 раза. Показателем железодефицитной анемии является резкое снижение содержания сывороточного железа в периферической крови больных, уменьшение всех метаболических фондов железа, в том числе и транспортного, снижение количества эритроцитов и гемоглобина, хронические кровопотери являются одной из самых частых причин железодефицитной анемии. Наиболее характерны необильные, но длительные кровопотери, которые незаметны для больных, но постепенно значительно снижают запасы железа и приводят к развитию анемии.

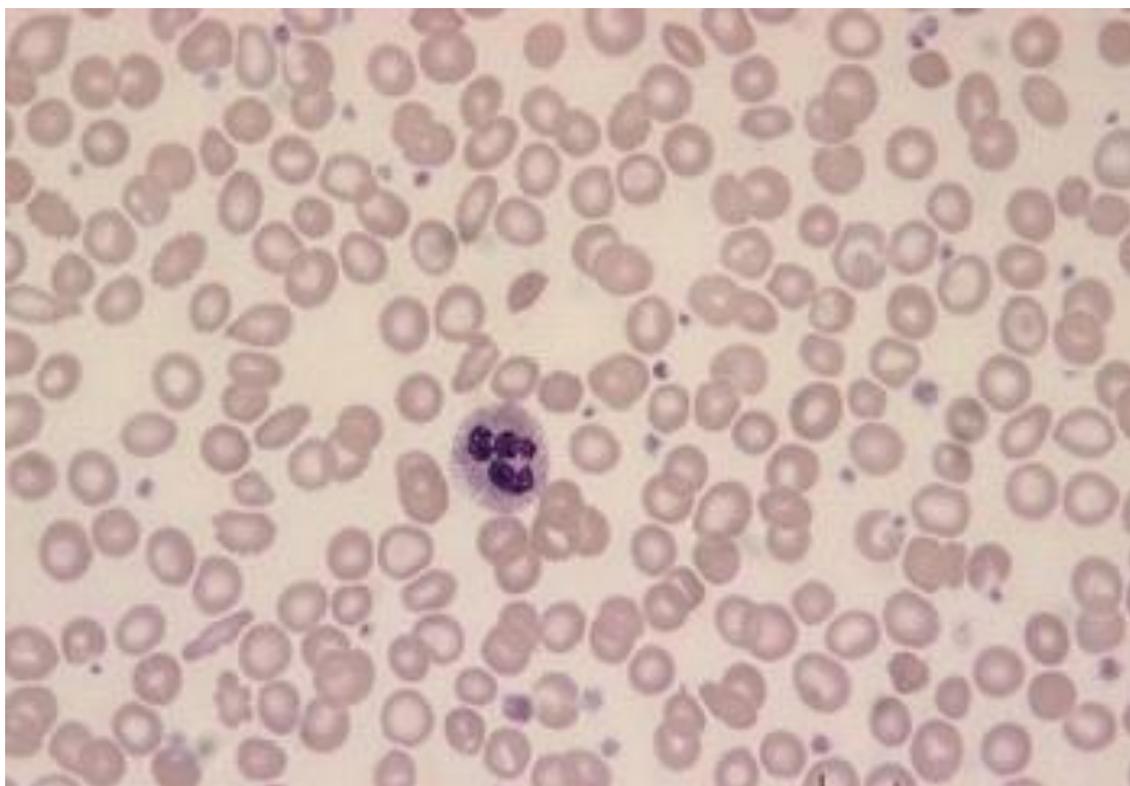
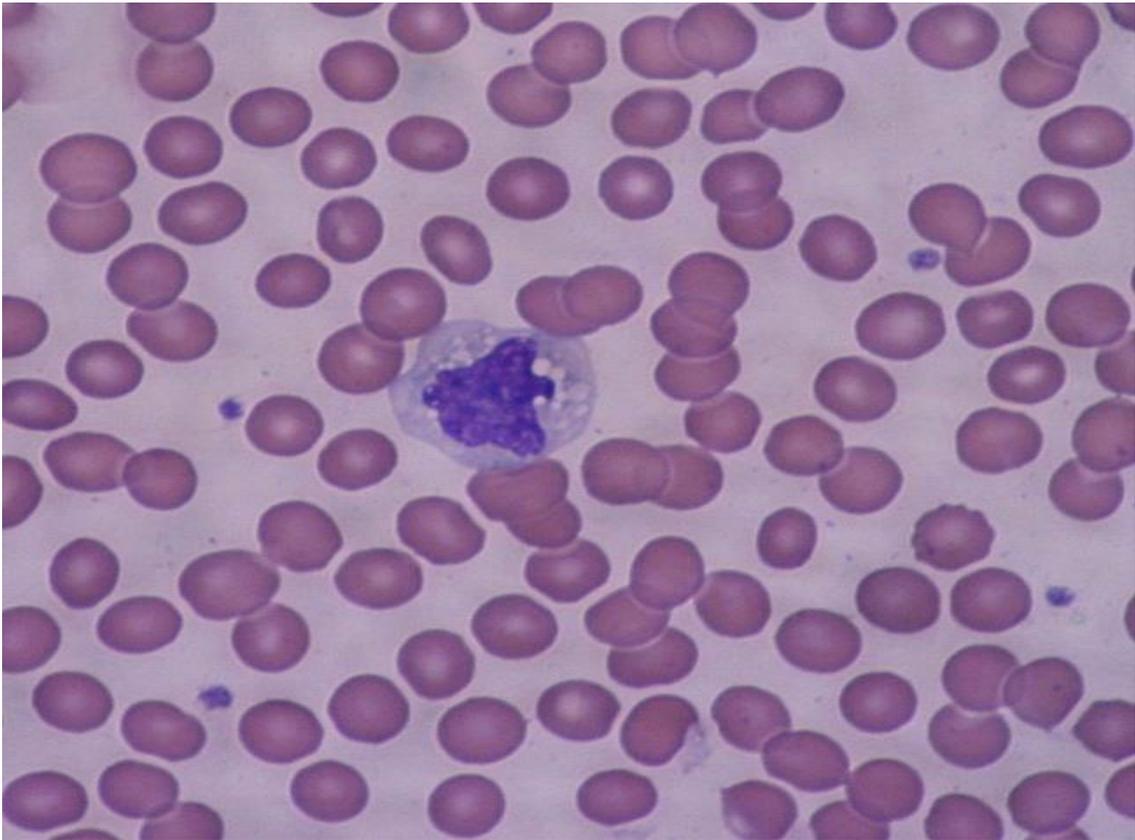


Рисунок-3.1. Железодефицитная анемия.



Рисуно

к-3.2.Хроническая постгеморагическая анемия.

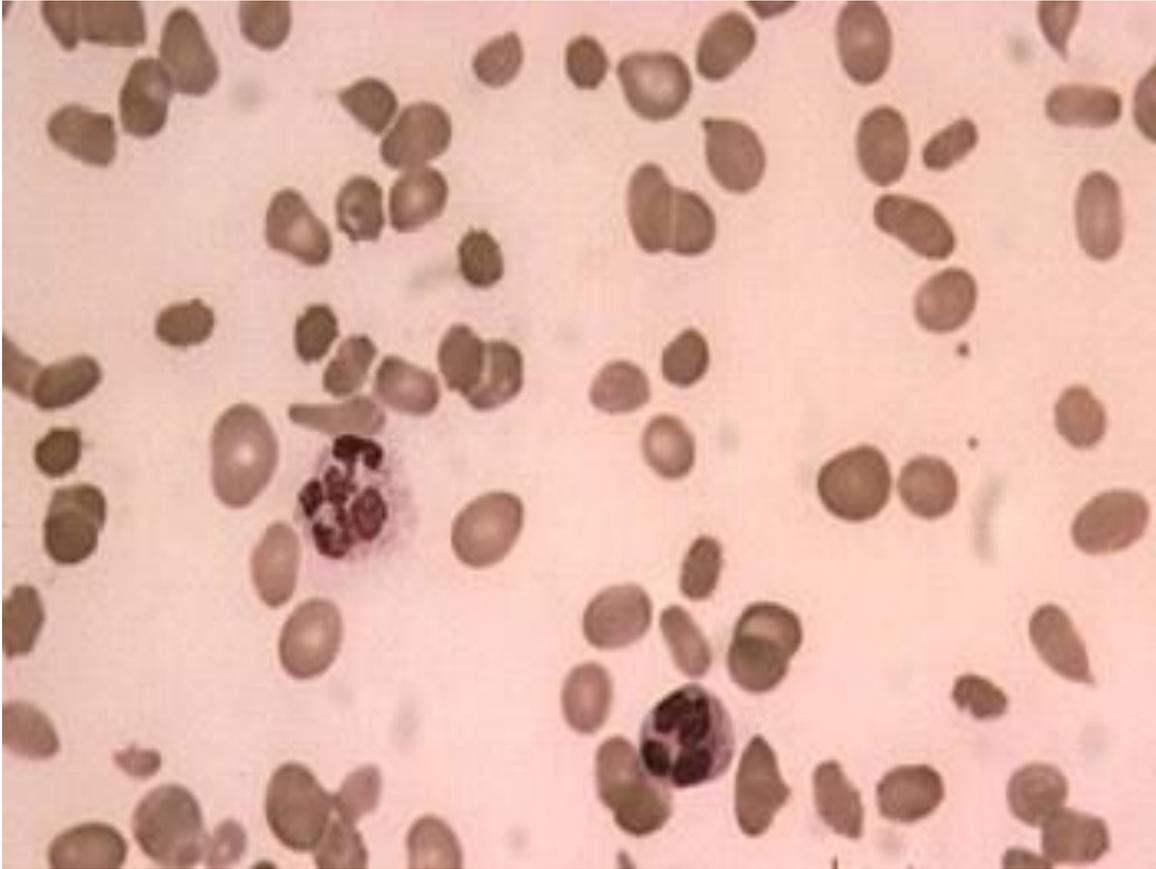


Рисунок-3.3. Мегалобластная анемия.

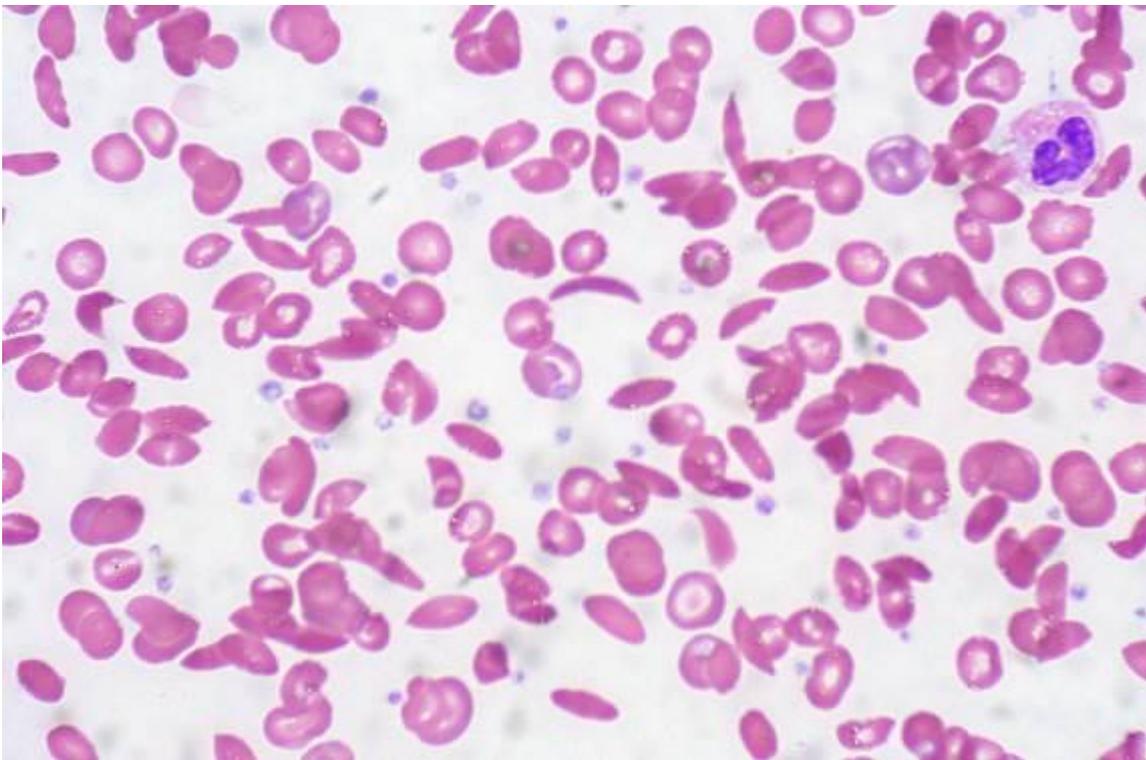
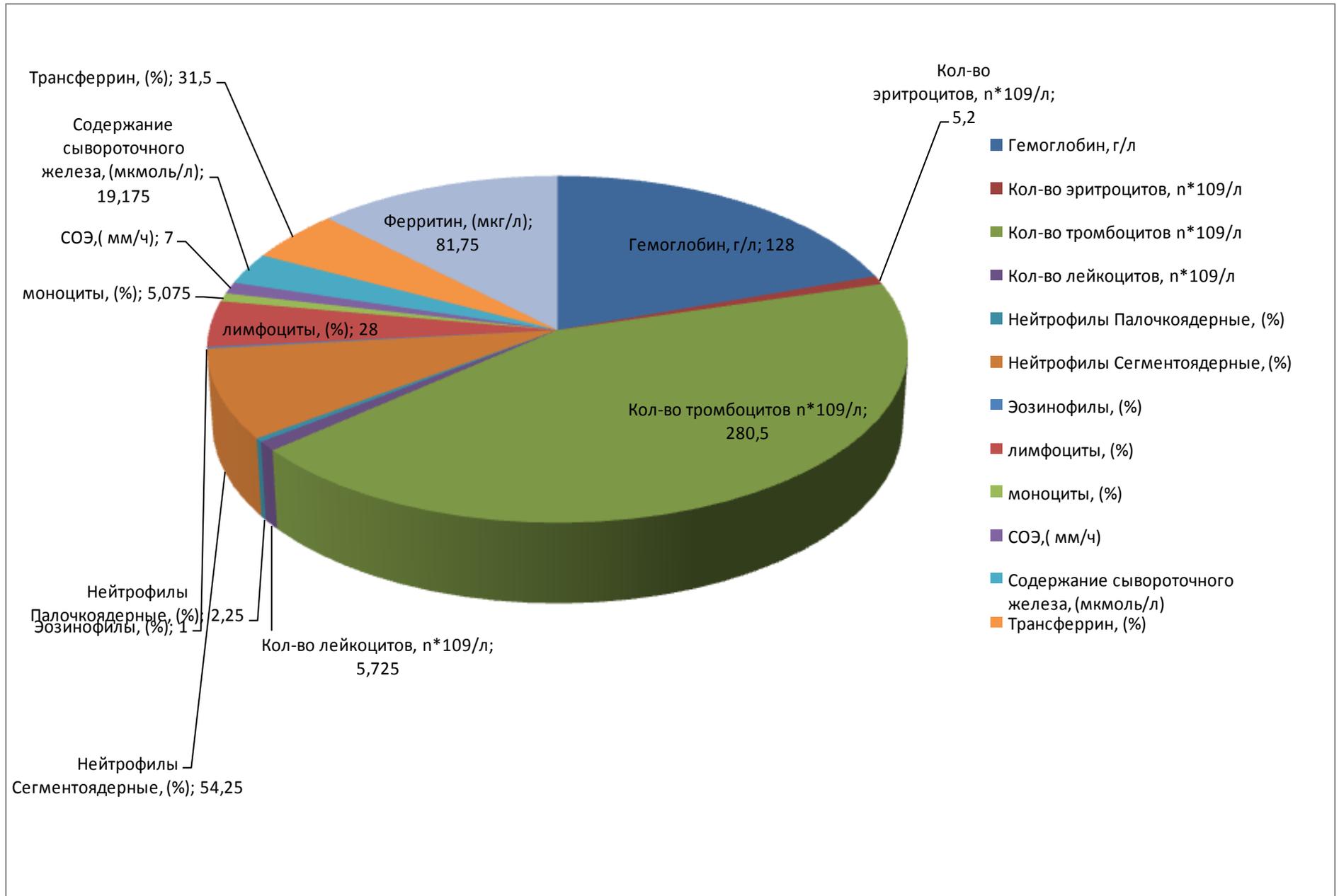


Рисунок-3.4. Серповидно-клеточная анемия

Таблица-3.1.

## Биохимические показатели периферической крови больных железодефицитной анемией.

Показатели	Здоровые					Больные					t
	n=4				$\bar{x}_k \pm m_k$	n=4				$\bar{x}_o \pm m_o$	
	1	2	3	4		1	2	3	4		
Гемоглобин, г/л	125	140	132	115	128±4.5	57	48	64	55	56±2.85	13.5<0.001
Кол-во эритроцитов, n*10 <sup>9</sup> /л	5.1	5.4	5.3	5.0	5.2±0.08	2.1	1.9	3.0	2.8	2.4±0.23	11.6<0.001
Кол-во тромбоцитов n*10 <sup>9</sup> /л	246	348	301	227	280±23.75	307	208	366	215	274±32.96	0.15<0.001
Кол-во лейкоцитов, n*10 <sup>9</sup> /л	5.6	6.4	5.7	5.2	5.7±0.21	4.1	3.5	5.0	4.3	4.2±0.36	3.57>0.1
Нейтрофилы Палочкоядерные, (%)	2	3	3	1	2.2±0.41	5	6	5	4	5.0±0.55	4.06<0.1
Нейтрофилы Сегментоядерные, (%)	52	55	60	50	54.2±1.89	64	66	62	65	64.2±0.77	4.9<0.1
Эозинофилы, (%)	1	1	0	2	1±0.25	2	2	1	1	1.5±0.25	1.43>0.1
лимфоциты, (%)	25	28	35	24	28±2.15	38	44	29	37	37±2.66	2.63>0.1
моноциты, (%)	4.8	5.1	6.0	4.4	5.0 ±0.29	2.1	1.0	3.0	2.2	2.1. ±0.35	6.44<0.1
СОЭ,( мм/ч)	6	8	9	5	7.0±0.79	18	16	25	35	23.5±3.72	4.34<0.1
Содержание сывороточного железа, (мкмоль/л)	15.2	23	20.5	18	19.2 ±1.44	6	4.5	6.2	5.5	5.5±0.33	9.25<0.01
Трансферрин, (%)	29	36	33	28	31.5±1.6	18	14	20	17	17.2±1.08	7.4<0.01
Ферритин, (мкг/л)	79	98	87	63	81.7±6.38	38	28	44	33	35.7±2.96	6.54<0.01



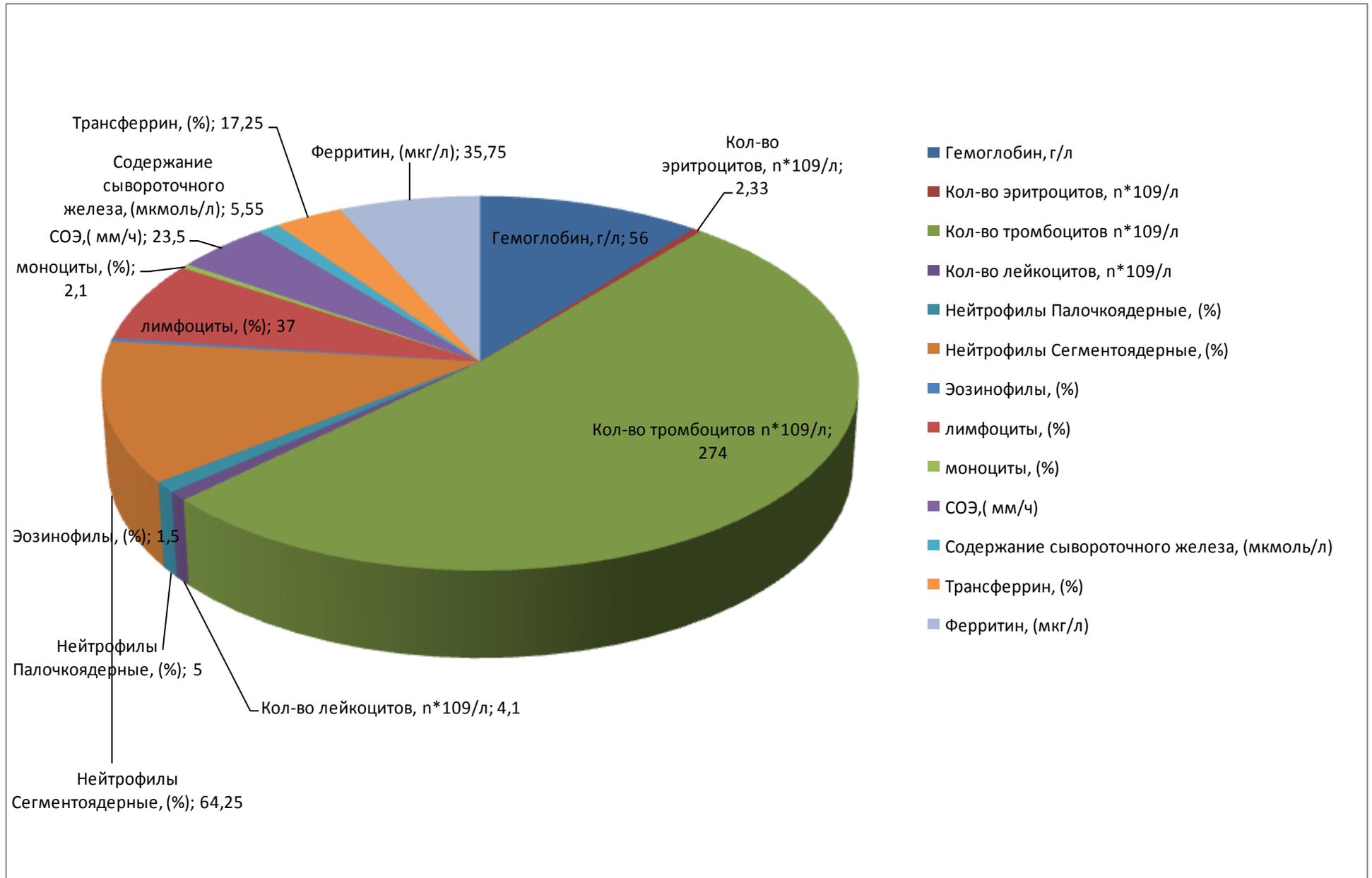
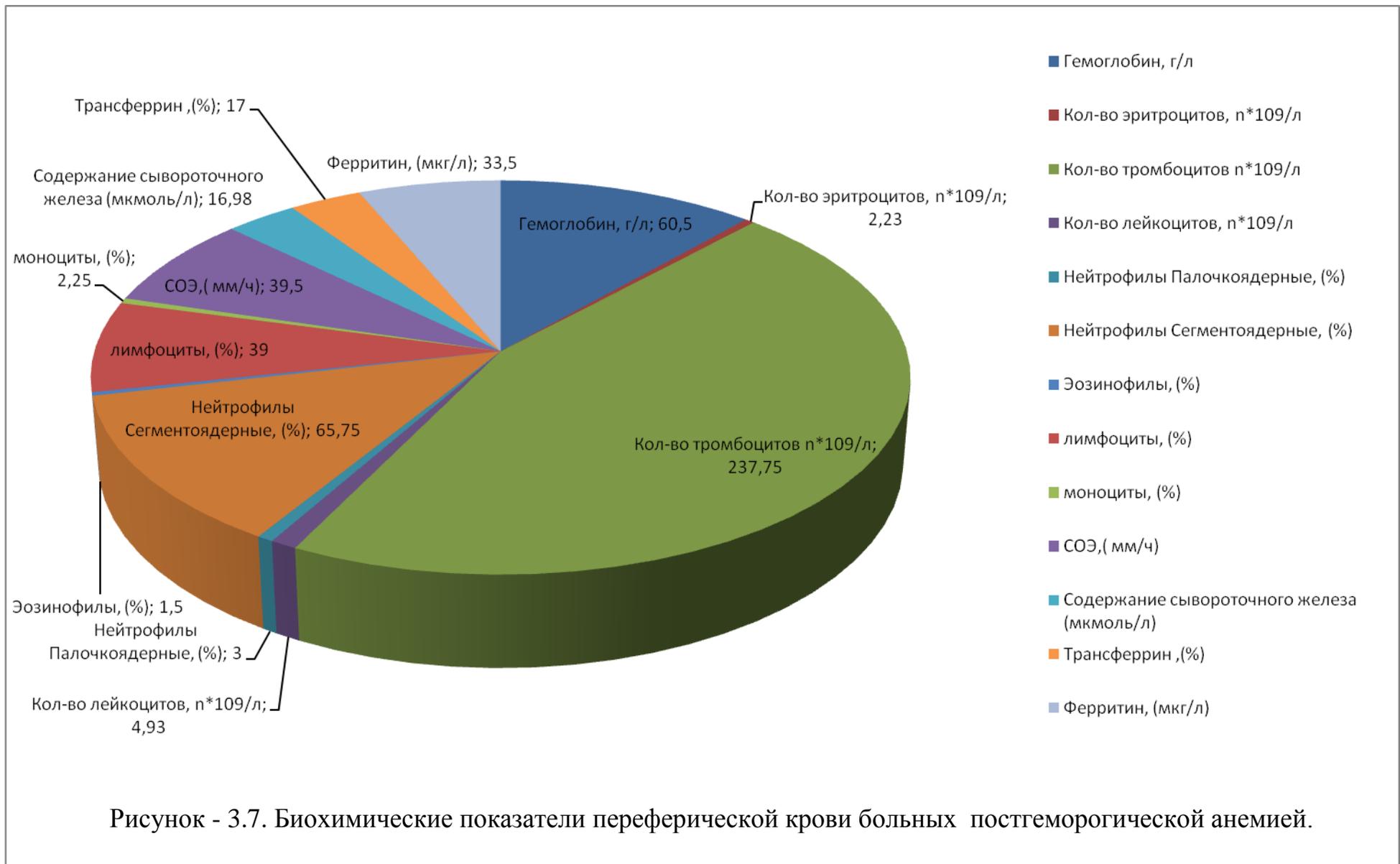


Рисунок - 3.6. Биохимические показатели периферической крови больных железодефицитной анемией.

**Биохимические показатели периферической крови больных постгеморрагической анемией.**

Показатели	Здоровые					Больные					t
	n=4				$\bar{x}_k \pm m_k$	n=4				$\bar{x}_o \pm m_o$	
	1	2	3	4		1	2	3	4		
Гемоглобин, г/л	125	140	132	115	128±4.5	56	66	75	45	60.5±5.59	10.1<0.001
Кол-во эритроцитов, n*10 <sup>9</sup> /л	5.1	5.4	5.3	5.0	5.2±0.08	2.4	2.0	2.7	1.8	2.2±0.17	6.2<0.001
Кол-во тромбоцитов n*10 <sup>9</sup> /л	246	348	301	227	280±23.75	208	232	306	205	237.7±20.38	2.94>0.1
Кол-во лейкоцитов, n*10 <sup>9</sup> /л	5.6	6.4	5.7	5.2	5.7±0.21	5.2	4.7	5.6	4.2	4.9±0.26	2.83>0.1
Нейтрофилы Палочкоядерные, (%)	2	3	3	1	2.2±0.41	2	3	5	2	3.0±0.61	1.43>0.1
Нейтрофилы Сегментоядерные, (%)	52	55	60	50	54.2±1.89	64	68	61	70	65.7±1.89	4.04<0.1
Эозинофилы, (%)	1	1	0	2	1±0.25	1	2	1	2	1.5±0.25	3.3>0.1
лимфоциты, (%)	25	28	35	24	28±2.15	38	41	32	45	39.0±2.37	1.56>0.1
моноциты, (%)	4.8	5.1	6.0	4.4	5.0 ±0.29	3	2	3	1	2.2±0.41	5.89<0.1
СОЭ,( мм/ч)	6	8	9	5	7.0±0.79	32	25	47	54	39.5±5.77	5.48<0.1
Содержание сывороточного железа (мкмоль/л)	15.2	23	20.5	18	19.2 ±1.44	14.4	17.0	18.2	18.3	17.0±0.78	3.46>0.1
Трансферрин, (%)	29	36	33	28	31.5±1.6	16	18	20	14	17.0±1.11	7.59<0.1
Ферритин, (мкг/л)	79	98	87	63	81.7±6.38	31	33	42	28	33.5±2.62	7.25<0.1







### 3.2. Изучение генетических особенностей анемий.

За последние годы достигнуты большие успехи в области медицинской генетики и молекулярно-биологических основ патогенеза ряда болезней, особенно наследственных, что позволяет проводить массовую и пренатальную диагностику в группах повышенного риска и медико-генетическое консультирование. Все наследственные болезни, а также ряд других заболеваний бывают связанные этиологически непосредственно с мутационными изменениями или с наследственным предрасположением, где они могут проявиться под влиянием внешних факторов. Ряд заболеваний весьма похожи между собой фенотипически и для определения типа наследования ряда признаков, в том числе патологических используется генеалогический метод [17,43].

Генеалогический метод используется для установления передачи нормальных и патологических признаков в ряду поколений на основании составления родословных. Он позволяет установить характер болезни как у самого пробанда (человек с которого начинается исследование), так и среди близких родственников. В связи с этим в родословные включаются данные, касающиеся как больных, так и здоровых членов семьи. На сегодняшний день роль генетических механизмов в патогенезе анемий недостаточно выяснена. Известен наследственный характер апластических анемий, возникающих в результате дефекта стволовой кроветворной клетки и гемолитических обусловленных дефектностью оболочек эритроцитов (микросфероцитоз, стоматоцитоз), аномальностью или нестабильностью гемоглобина (талассемии, серповидно клеточная анемия). Особый интерес вызывает изучение характера наследования или наследственной предрасположенности к железодефицитной и постгемолитической анемии [40].

Мы исследовали характер наследования железодефицитной и постгеморагической анемии, изучая родословные 279 членов семей больных данными заболеваниями. В группе семей практически здоровых пробандов

сведения касались состояния здоровья 124 ближайших родственников, в число которых вошли родители-дети, братья-сёстры.

Результаты изучения родословных показали, что число больных в используемых группах превышает контрольную в 5-6 раз, но достоверные отличия от контрольной характер группы для семей больных железодефицитной анемией не наблюдалось. Дефицит железа снижает устойчивость организма к инфекционным заболеваниям, нарушаются процессы синтеза ферментов, что вызывает воспалительные процессы (таблица-3.3).

Родословная пробанда А-в представлена на рисунке (рисунок.-3.8). Пробанд А-в проживает в городе Самарканде, обследовано его 28 родственников, в семье 4 детей, он является последним. Со стороны матери у прадеда наблюдалась злокачественная опухоль, у старшей сестры матери наблюдался спонтанный выкидыш. В семье больных анемией в данном случае не наблюдается наследственный характер анемии.

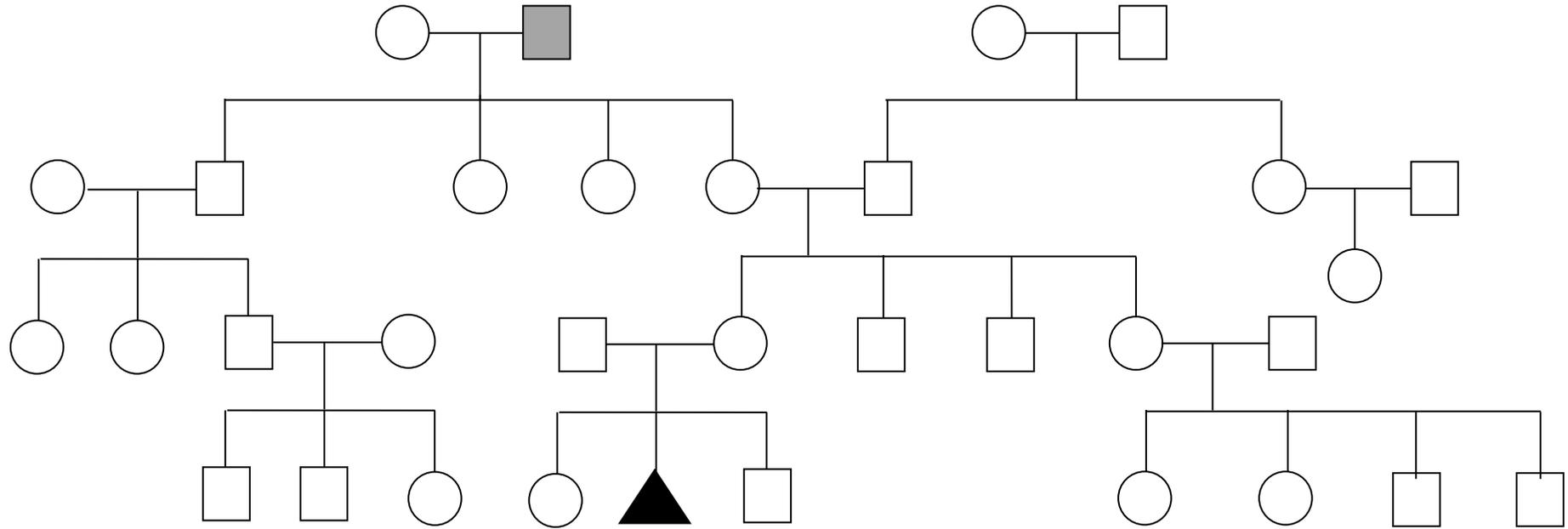
Пробанда Д-в является вторым ребёнком в семье, болеет железодефицитной анемией, его сестра со стороны матери болела анемией, а его дед со стороны отца имел злокачественное заболевание, выкидыши наблюдались в семье родной сестры отца и двоюродной сестры пробанда (рисунок.-3.9.). В ряде семей железодефицитной анемией была отмечена повышенная частота спонтанных Abortов и выкидышей.

Таким образом изучение родословных больных железодефицитной и постгеморагической анемией не выявило наследственного характера анемий, что подтверждается рядом литературных источников [Смирнов, 2008 г.]. Однако в семьях больных железодефицитной анемией отмечена повышенная частота спонтанных Abortов и выкидышей.

Таблица-3.3.

Частота злокачественных новообразований в семьях больных анемиями и практически здоровых людей.

Семьи	Число родственников	Из них больных злокачественными новообразованиями		Достоверность отличная от контроля	
		Число	%	t	p
Больных железодефицитной анемий (ЖА)	145	8	5.22 ± 0,68	3.6	<0,1
Больных постгеморагической анемией (ПА)	152	7	4.63 ± 0,84	2.99	<0,1
Практически здоровых лиц (контрольная группа)	124	2	1.62 ± 0,78	—	—



□ - здоровый мужчина

■ - больной ОПА мужчина

■ - злокачественное образование

○ - здоровая женщина

● - больная ОПА женщина

▲ - выкидыш

Рис-3.8. Родословная пробанда А-ва с заболеванием острая постгеморагическая анемия (ОПА).

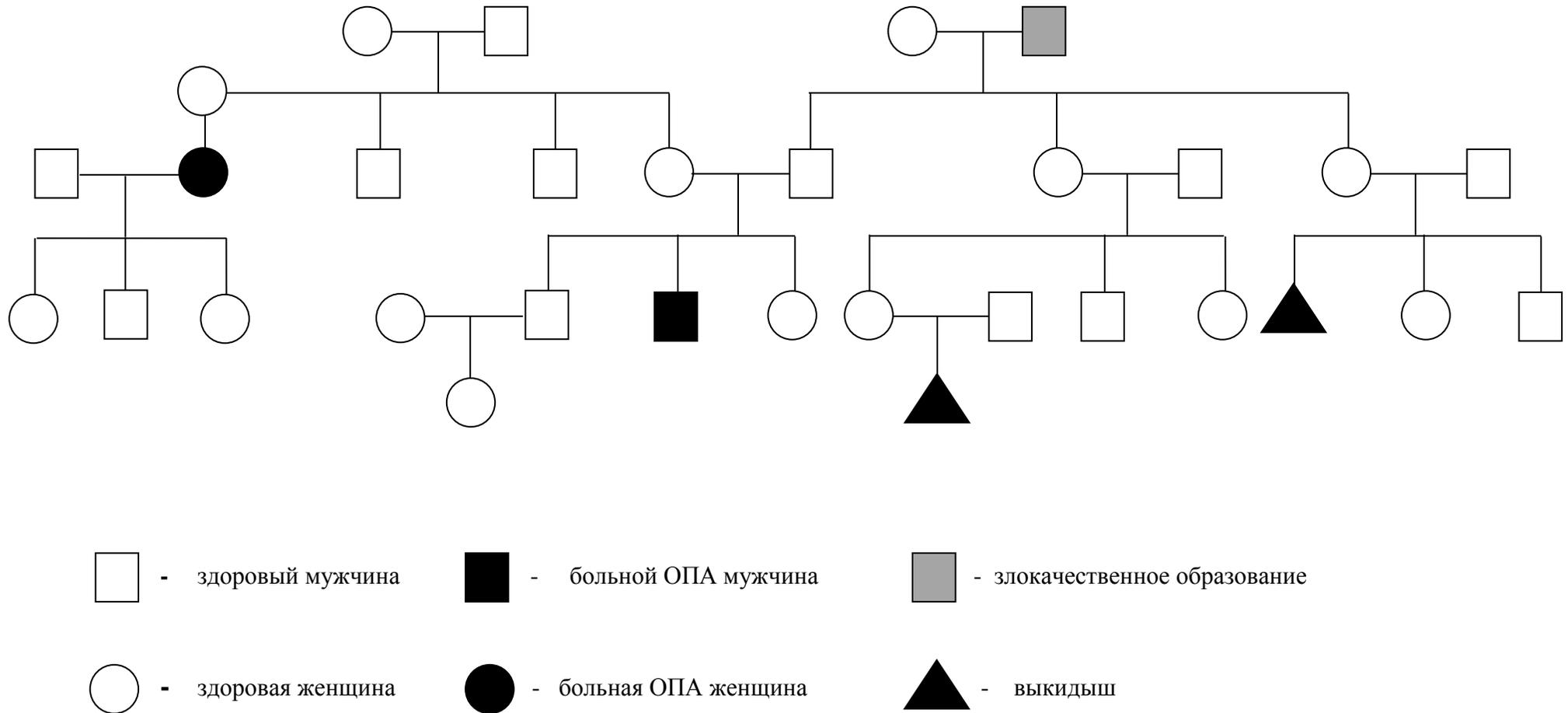


Рис.-3.9. Родословная пробанда Д-в с заболеванием острая железодефицитная анемия (ОЖА).

### Выводы

1. Изучены заболевания системы крови: гемобластозы, гемофилии, анемии, имеющие свой цитоморфологические, биохимические и генетические особенности и характеризующийся нарушениями системы нормального кроветворения.
2. Изучена классификация анемий, по патогенезу которых их делят на 2 основные группы: постгеморагические анемии и геморагические анемии, обусловленные повышением кроверазрушением. Железодефицитные анемии объединяют в многочисленные, разной этиологии анемические синдромы, патогенетическим фактором которых является недостаток железа в организме.
3. Изучены биохимические и генетические особенности анемий . К биохимическим нарушениям относят сдвиги метаболизма , определяющих нарушение пластического и энергетического обменов. Установлено, что наследственные формы анемий связаны с нарушением мембраны эритроцитов , дефицитом активности ферментов, изменением структуры или синтеза гемоглобина и передаются по доминантно-аутосомному типу. К ним относят энзимопатии , таласемии, серповидно-клеточная анемия.
4. Изучение биохимических показателей больных разными формами анемий на основе гемограмм показало достоверное снижение уровня гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, что свидетельствует об лейкопении , эритропении и выраженной тромбоцитопении. Наличие гранулоцитов, снижение содержания сывороточного железа в периферической крови больных является критерием диагноза железодефицитной анемии.
5. Изучена роль генетических механизмов в патогенезе анемий . На основе составления родословных больных железодефицитной и постгеморрагической анемиями было установлено , что они не имеют наследственного характера . Однако в семьях железодефицитной анемии отмечена повышенная частота спонтанных abortов и выкидышей, развитие которых обусловлено аномалиями хромосомного аппарата.

### **Рекомендации.**

1. Проводить профилактические мероприятия по выявлению приобретённых и наследственных форм анемий.
2. Использование современных молекулярно-генетических и биохимических методов исследования разных видов анемий, для исключения наследственного фактора в их этиологии.
3. Результаты исследований могут быть использованы в медицинских клиниках, диагностических медицинских центрах, а так же в профилактической и просветительской деятельности в колледжах, лицеях и школах.

### Список используемой литературы:

1. Абдулкадыров, К.М. Клиническая гематология: справочник / К.М. Абдулкадыров. СПб.: Питер, 2006. - 448 с.
2. А  
брамов М.Г. Гематологический атлас М. Медицина 1985 с 280
3. Абрамов М.Г. Клиническая цитология. М.: Медицина, 1974. - с. 335
4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. М.: Медицина, 1990.-384 с.
5. А  
лмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарницкий А.Ю., Забелина Т.С. и др. Изучение колониеобразующей способности клеток костного мозга и крови больных с различными формами острого лейкоза. В кн.: Механизмы регуляции в системе крови.- Красноярск, 1978, т. 1 - с. 4-5
6. Ахлямова, А.А. Особенности лабораторных показателей при железодефицитной анемии в подростковом возрасте / А.А. Ахлямова и др. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2005. - № 9. - С. 45.
7. Афанасьев Б. В., Алмазов В. А. Родоначальные кроветворные клетки. Л.: Наука, 1985. - с. 204
8. Барановская, И.Б. Система распознавания патологий эритропоэза на основе вычислительных процедур / И.Б. Барановская, С.А. Онищук // Врач и информационные технологии.- М.: Менеджер здравоохранения, 2008. № 6. -С. 53-62.
9. Барановская, И.Б. Способ вероятностной диагностики анемий различного генеза / И.Б. Барановская, С.А. Онищук // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. - № 9. - С. 22.
10. Барановская, И.Б. Использование вероятностного подхода для скрининговой диагностики анемических состояний / И.Б. Барановская,

- С.А. Онищук // Кубанский научный медицинский вестник. 2008. - № 3 - 4 (102-103).-С. 82-86.
11. Бочков Н.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И., Медицинская генетика. М.: Высшая школа, 1984. - с. 35-56.
12. Булыгин, В.П. Определение показателей чувствительности и специфичности интерпретирующих правил в задаче испытаний медицинских приборов / В.П. Булыгин, А.Г. Чепайкин // Медицинская техника. 2003. - № 6.-С. 10-15.
13. Голдберг Е.Д. Дыгай А.М. Шерстобоев Е.Ю. Механизмы локальной регуляции кроветворения Томск 2002 с 8-76
14. Гусева С.А. Воднюк В.П. Бальшин М.Д. Болезни системы крови. К.: Логос 2001 с 248-542
15. Дворецкий Л.И. Железодефицитные анемии.//Рук.мед.жур. 1999 Т5№19 с1220-1240
16. Демидова А.В. Ливановский Ю.А. Сельдин М.А. Проблемы гематологии. 1974 №11 с -39
17. Долгов В.В. Луговская С.А. Морозова В.Т. и др. Лабораторная диагностика анемий. Пособие для врачей. Тверь 2001 с 7-22
18. Ковалёва Л.Г. Острые лейкозы. М.: Медицина.1990
19. Козловская Л.В. Николаева А.Ю. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам. Под. ред.Тареева Е.М. М. Медицина.1985 с25-60
20. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. Пособие для биол. Спец. Вузов – 4-е изд., перераб и доп. М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

21. Любина А.Я.Ильичева Л.Л. Петросова С.А.и др.Клинические лабораторные исследования.М.-Медицина.1984 с 36-70
- 22.Луговская, С.А. Гематологические анализаторы в диагностике железодефицитных анемий / С.А. Луговская и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. -№ 6. - С. 7-10.
23.  
Окороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов. Том 4. Диагностика болезней системы крови. М.: Медицинская литература 2003г.
24.  
Погорелов В.М., Козинец Г.И., Шмаров Д.А. и др. Клетки крови:современные технологии исследования. М.: Триада-фарм, 2002. с. 451
25.  
Покровский А.А. Биохимические исследования в клинике, М.,1969,с.351
26.  
Поллак Дж, Норден С. Введение в иммуноцитохимию: современные методы и проблемы. М.: Мир, 1987. - 238 с.
27.  
Почтарь М.Е., Луговская С.А., Морозова В.Т. Цитохимическая диагностика в лабораторной гематологии. СПб., 2003. – с.79
- 28.Шкловская, Е.В. Негативные регуляторы гемопоеза / Е.В. Шкловская, И.А. Орловская, В.А. Козлов // Гематология и трансфузиология. — 1998. — Т. 43,-№6.-С. 39-43.
- 29.Файнштейн Ф.Э. Болезни системы крови., Т.: Медицина, 1987- 671 с.
- 30.Haidar, J. Prevalence of anaemia, deficiencies of iron and folic acid and their determinants in Ethiopian women / J. Haidar // J Health Popul Nutr. 2010. - Vol. 28.-№4.-P. 359-368.

31. Horvathova, M. Molecular basis of hereditary iron homeostasis defects / M. Horvathova, P. Ponka, V. Divoky // Hematology. 2010. - Vol. 15. - № 2. - P. 96-111.
32. Huh, J. Erroneously elevated immature reticulocyte counts in leukemic patients determined using a Sysmex XE-2100 hematology analyzer / J. Huh, H. Moon, W. Chung // Ann Hematol 2007. - Vol. 86. - № 10. - P. 759-762.
33. Johansson, P.I. A retrospective cohort study of blood hemoglobin levels in blood donors and competitive rowers / P.I. Johansson et al. // Scand J Med Sci Sports. 2009. - Vol. 19. - № 1. - P. 92-95.
34. Muramatsu, S. Shortening of the period of primary immuneresponse by the prior injection of Freund's adjuvants / S.Muramatsu // Nature. 2005. Vol.201. №4924. P.1141.
35. Nicolaides, K.H. Cordocentesis in the investigation of fetal erythropoiesis / K.H.Nicolaides, B.Thilaganathan, R.S.Mibashan // Am. J. Obstet. Gynecol., 1989. Vol.161, p.1 197-1200.
36. Nienhuis, A.W. Mapping the human genome / A.W.Nienhuis // N. Eng. J. Med. 2008. Vol.299, N4. p.195-196.
37. Rietjens, G.J. Red blood cell profile of elite Olympic distance triathletes. A three-year follow-up / G.J. Rietjens et al. // Int J Sports Med: 2002. - Vol. 23. - № 6. — P. 391-396.
38. Riley R.S. Reticulocyte analysis by flow cytometry and other techniques / R.S. Riley et al. // Hematol Oncol Clin North Am. 2002. - Vol. 16. - № 2. - P. 373-420.
39. Schoorl, M. Erythropoiesis activity, iron availability and reticulocyte hemoglobinization during treatment with hemodialysis and in subjects with uremia / M. Schoorl, M.J. Nube, P.S. Barterls // Clin Lab.- 2006. Vol. 52. - № 11-12. -P. 621-629.
40. [www.mediscom.ru](http://www.mediscom.ru)
41. [www.medanalizi.ru](http://www.medanalizi.ru)

42. [dic.academic.ru](http://dic.academic.ru)

43. <http://www.gematol.ru>