

Лекция №1. Клинические лабораторные исследования крови:

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВИ

Кровь (*sanguis*) является одной из разновидностей соединительной ткани. Кровь состоит из плазмы и форменных элементов, формируется при взаимодействии многих органов и систем организма. К форменным элементам крови относятся эритроциты, лейкоциты и тромбоциты.

Форменные элементы крови составляют около 45 % ее объема, а 55 % приходится на долю ее жидкой части — плазмы. Кроме форменных элементов и плазмы к системе крови относятся лимфа, органы кроветворения и иммунопоэза (красный костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани).

Все элементы в системе крови взаимосвязаны гистогенетически и функционально и подчиняются общим законам нейрогуморальной регуляции. В среднем количество крови составляет 6–8 % от массы тела человека; при весе 70 кг объем крови составляет приблизительно 5 литров.

Кровь является самой подвижной средой в организме, чутко реагирующей на весьма незначительные физиологические и тем более патологические сдвиги в организме. По учету и оценке динамики изменений состава крови клиницист стремится познать процессы, происходящие в различных органах и тканях.

Правильная и ранняя диагностика заболевания, целесообразное лечение, верный прогноз течения болезни часто бывают совершенно невозможны без данных морфологического и биохимического исследований крови. При этом исключительно важное значение имеют повторные исследования, так как динамика гематологических сдвигов в значительной мере отражает динамику патологического процесса.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

Полное морфологическое исследование крови человека весьма обширно и длительно, поэтому проводится лишь в особых случаях или с научной целью.

При обследовании больного обычно применяется исследование крови, которое носит название общий клинический анализ. Этот анализ включает изучение количественного и качественного состава форменных элементов крови:

- определение количества гемоглобина;
- определение числа эритроцитов;
- расчет цветового показателя;
- определение числа лейкоцитов и соотношение отдельных форм среди них;
- определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

У некоторых больных в зависимости от характера заболевания производят дополнительные исследования: подсчет ретикулоцитов, тромбоцитов, определение времени свертывания.

Для клинического анализа берут периферическую кровь. При этом кровь у больного желательно брать утром, до еды, так как прием пищи, лекарств, внутривенные введения, мышечная работа, температурные реакции и другие факторы могут вызвать различные морфологические и биохимические изменения в составе крови.

Техника взятия крови

- взятие крови следует проводить в резиновых перчатках, соблюдая правила асептики, обрабатывая перчатки 70° спиртом перед каждым взятием;
- кровь берут из концевой фаланги 4-го пальца левой руки (в особых случаях можно брать из мочки уха или из пятки — у новорожденных и грудных детей);
- место прокола предварительно протирают ватным тампоном, смоченным в 70° спирте; кожа должна высохнуть, иначе капля крови будет растекаться;
- для прокола кожи пользуются одноразовой стерильной иглой-скарификатором;
- прокол следует делать на боковой поверхности пальца, где капиллярная сеть гуще, на глубину 2–3 мм; разрез (прокол) рекомендуется производить поперек дактилоскопических линий пальца, так как в этом случае кровь идет легко и обильно;
- первую каплю крови следует удалить, так как она содержит большое количество тканевой жидкости; после каждого взятия крови ее остатки на пальце вытирают и последующее взятие производят из вновь выступающей капли;
- после взятия крови к раневой поверхности прикладывают новый стерильный тампон, смоченный 70° спиртом.

Гемоглобин (haemoglobinum)

мужчины — 130–160 г/л

женщины — 120–140 г/л

Определение гемоглобина является одним из важнейших и основных лабораторных исследований. Наряду с подсчетом эритроцитов, это важнейший лабораторный показатель для оценки анемических состояний.

КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ГЕМОГЛОБИНА ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА

Гемоглобин — основной дыхательный белок крови, относящийся к хромопротеидам. Состоит из белковой (глобин) и небелковой (гем) части. Он является белком четвертичной структуры и состоит из четырех субъединиц, каждая из которых включает полипептидную цепь, соединенную с гемом. Полипептидные цепи попарно одинаковы: 2 цепи глобина типа α и 2 цепи глобина другого типа (β , γ и δ), соединенные с 4 молекулами гема. Гем — это молекула протопорфирина IX, связанная с атомом железа.

Каждый тетramer гемоглобина может обратимо связывать и транспортировать не более 4-х молекул кислорода. 65 % гемоглобина образуется в эритроците в ядро содержащих стадиях созревания, 35 % — в стадию ретикулоцита. В стадии зрелого нормоцита синтез гемоглобина прекращается.

В настоящее время известно 3 главных подтипа гемоглобина: Hb A, Hb F и Hb A2. Основным является подтип A, который в норме составляет 96–98 % общего гемоглобина, тогда как Hb A2 составляет всего 2–3 %. Фетальный гемоглобин, преобладающий в крови новорожденного (Hb F), присутствует в крови у взрослого человека в количестве 1–1,5 %.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА

Существуют три основные группы методов определения количества гемоглобина:

- колориметрические;
- газометрические;
- по содержанию железа в гемоглобиновой молекуле.

Ранее широко применялся колориметрический гематиновый метод, известный под названием метода Сали, который весьма несложен и удобен, но очень неточен.

В настоящее время используются главным образом циангемоглобиновые методы, в которых лучше всего сочетаются точность и техническая простота.

Газометрические методы и методы, основанные на определении железа точны, но требуют много времени и поэтому не нашли широкого практического применения.

Определение количества гемоглобина в крови циангемоглобиновым методом. Унифицированный метод определения гемоглобина, наиболее широко применяемый в клинических лабораториях.

1. Принцип метода.

Гемоглобин при взаимодействии с железосинеродистым калием окисляется в метгемоглобин, образующий с ацетонциангидрином окрашенный гемоглобинцианид, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию гемоглобина.

2. Реактивы: а) трансформирующий раствор, содержащий ацетонциангидрин (0,5 мл), калий железосинеродистый (200 мг), бикарбонат натрия (1 г), дистиллированную воду (до 1000 мл). При появлении мути раствор не пригоден к употреблению; б) стандартный раствор гемоглобинцианида — 5 мл. Концентрация гемоглобинцианида — 150 г/л.

3. Приготовление трансформирующего раствора.

В мерную колбу на 1000 мл внести приблизительно 500 мл дистиллированной воды, количественно прибавить содержимое флакона смеси реактивов и содержимое 1 ампулы ацетонциангидрина, перемешать и дополнить дистиллированной водой до метки, перемешать и пере-лить в посуду для хранения. Хранить в прохладном, темном месте.

4. Ход определения.

20 мкл крови прибавляют к 5 мл трансформирующего раствора, хорошо перемешивают, оставляют стоять 20 мин, после чего измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волн 500–560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 1 см против трансформирующего раствора или дистиллированной воды. Результат выражается в г/л.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Для ориентировочного определения гемоглобина крови иногда используют гемометр Сали. Метод основан на сравнении интенсивности окраски исследуемого раствора с интенсивностью окраски стандартного раствора. Гемоглобин крови под действием соляной кислоты превращается в солянокислый гематин, окрашивающий раствор в коричневый цвет. Полученный раствор колориметрируют:

- в градуированную пипетку наливают децинормальный раствор соляной кислоты до нижней круговой метки;
- затем в пробирку с помощью капиллярной пипетки вносят 20 мкл исследуемой крови, полученной из пальца;
- смесь крови с соляной кислотой тщательно перемешивают посредством легких ударов по нижнему концу пробирки. Наблюдают за изменением цвета крови в течение 5 минут;
- по истечении этого времени жидкость осторожно разбавляют дистиллированной водой до тех пор, пока интенсивность ее окраски не совпадет с интенсивностью окраски стандартного раствора;

- цифра шкалы на уровне нижнего мениска раствора показывает концентрацию гемоглобина в граммпроцентах (г%), грамм в литре (г/л)

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА НОРМА:

- у новорожденного — 136–196 г/л;
- у трехмесячного — 105–125 г/л;
- у ребенка в возрасте 1 года — 110–130 г/л;
- у ребенка в возрасте 10 лет — 115–148 г/л
- у взрослого мужчины — 130–160 г/л;
- у взрослой женщины — 120–140 г/л.

Пониженная концентрация гемоглобина в крови называется олигохромемией (или гемоглобинопенией).

Наблюдаются при:

- анемиях (железодефицитной, гемолитической, гипопластической, В12-дефицитной);
- острых кровопотерях (в первые сутки кровопотери из-за сгущения крови, обусловленного большой потерей жидкости, концентрация гемоглобина не соответствует картине истинной анемии);
- скрытых кровотечениях;
- злокачественных опухолях и их метастазах;
- поражении костного мозга, почек и некоторых других органов;
- в результате действия некоторых лекарственных препаратов, которые могут вызвать развитие апластической анемии (противоопухолевые, противосудорожные, тяжелые металлы, некоторые антибиотики, анальгетики) или способствовать развитию гемолиза (пенициллин, левомицетин, сульфаниламиды).

Гиперхромемия — редкое явление и не имеет большого клинического значения. Она встречается при:

- первичных и вторичных эритроцитозах;
- относительных эритроцитозах при дегидратации (декомпенсации сердца и т. д.).

На современном уровне развития методов диагностики совершен но недостаточно ограничиваться определением общего количества гемоглобина, так как в некоторых случаях определение качественного состава имеет решающее диагностическое значение.

Гемоглобин циркулирует в крови в форме нескольких производных. Присоединение кислорода (к железу гема) приводит к образованию оксигемоглобина (HbO_2). Отдав кислород тканям, оксигемоглобин превращается в восстановленную форму ($\text{HbO}_2 \leftrightarrow \text{HHb}$). Удаление углекислого газа из тканей происходит путем его присоединения к свободным аминным группам гемоглобина и при этом образуется карбаминогемоглобин (карбогемоглобин). Окись углерода (CO) присоединяется к железу гема, в результате чего образуется стойкое соединение карбоксигемоглобин. Окись углерода является продуктом обмена и образуется эндогенно при распаде гема (в норме при старении эритроцитов).

Содержание карбоксигемоглобина, в первую очередь, является показателем гемолиза. Железо гема находится в двухвалентной форме. При окислении его ($\text{Fe}^{++} \leftrightarrow \text{Fe}^{+++}$) образуется метгемоглобин. Окислителями железа гема могут быть различные продукты метаболизма — активные формы кислорода, ферменты, альдегиды и др. В норме за сутки образуется 2,5 % метгемоглобина, а обнаруживается в крови 1,5 %.

Метгемоглобинредуктазная система восстанавливает метгемоглобин, переводя его в восстановленную форму, возвращая тем самым способность транспортировать кислород. К экзогенным метгемоглобинобразователям относятся нитриты, нитраты, присутствующие в избыточном количестве в воде, в пище, ряд лекарственных препаратов. Гемоглобин, соединяясь с различными сульфопроизводными в комплексах, образует сульфометгемоглобин.

У здоровых людей это производное гемоглобина не содержится в крови. Обнаружение его свидетельствует о повышенном содержании сульфопроизводных в воде, пище, воздухе. В связи с этим сульфометгемоглобин является маркером экологической обстановки.

Диагностическое значение имеет определение гликозилированных гемоглобинов, образующихся в результате комплексирования гемоглобина с различными углеводородами. 95 % от общего количества гликозилированных гемоглобинов приходится на долю гемоглобина A1c, образующегося в результате комплексирования гемоглобина и глюкозы.

Дифференциацию производных гемоглобина проводят спектроскопически. Типы гемоглобина имеют большое значение не только для диагноза, но и перемещают вопрос о патогенезе анемии из чисто морфологической области в биохимическую.

Анемии, вызываемые появлением патологического типа гемоглобина, называются гемоглобинопатиями. К настоящему времени открыто более 600 аномальных гемоглобинов. Известны гемоглобинопатии M, С, Д, «Волга», «Хельсинки» и др. Они могут быть качественными и количественными.

Качественные возникают в результате замены аминокислот. Количественные гемоглобинопатии обусловлены изменением скорости синтеза полипептидных цепей.

Эритроциты (*erythrocytes*)

мужчины — $4,0\text{--}5,0 \times 10^{12}/\text{л}$

женщины — $3,7\text{--}4,7 \times 10^{12}/\text{л}$

Наряду с определением гемоглобина, подсчет красных кровяных телец (эритроцитов) является важнейшим исследованием при оценке анемических состояний.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ

Существуют следующие методы подсчета количества эритроцитов: метод камерного подсчета эритроцитов. Предложено много камер для подсчета кровяных клеток (камера Бюркера, Горяева, Тома, Предтеченского, Нейбауэра и др.). Наиболее часто при условиях работы, применяется сетка Горяева;

- фотометрические методы (с помощью приборов: эритрогемометров и электрофотоколориметров). Принцип работы этих приборов состоит в определении числа эритроцитов путем измерения с помощью фотоэлемента количества света при прохождении его через взвесь эритроцитов;
- электронно-автоматические методы подсчета. Принцип работы заключается в изменении клетками крови сопротивления электрической цепи при прохождении их через узкий капилляр, что регистрируется с помощью электромагнитного счетчика.

Каждая клетка отражается на осциллоскопическом экране и регистрируется автоматическим счетчиком.

В клинике пользуются преимущественно способами камерного и фотометрического подсчета эритроцитов.

Подсчет эритроцитов с помощью камеры Горяева

Счетная камера Горяева состоит из 225 больших квадратов . Часть этих квадратов разделена на 16 маленьких квадратов. Сторона маленького квадрата равна $1/20$ мм, площадь — $1/400$ мм², высота камеры — $1/10$ мм, поэтому объем пространства над этим квадратом — $1/4000$ мм³.

В настоящее время широкое распространение получил более простой пробирочный метод взятия крови для подсчета форменных элементов:

- в сухие чистые пробирки заранее наливают разводящую жидкость для эритроцитов — 4 мл 2% раствора хлористого натрия;
- кровь набирают в капиллярную пипетку от гемометра Сали немного выше метки 20 мкл, а затем, обтирая кончик капилляра сухой ватой, доводят столбик до метки;
- кровь выдывают на дно пробирки; пипетку тщательно промывают в верхнем слое жидкости. Содержимое пробирки перемешивают. При внесении 20 мкл крови в 4 мл раствора NaCl получается разведение в 200 раз, что необходимо для подсчета эритроцитов;
- подсчет эритроцитов производится далее в счетной камере Горяева. Чистое и сухое покровное стекло притирают к камере так, чтобы в местах их соприкосновения образовались радужные кольца;
- перед заполнением камеры содержимое пробирки несколько раз перемешивают, затем концом круглой стеклянной палочки отбирают из пробирки, наклоняя ее, каплю крови и подносят к краю шлифованного стекла камеры. Если одной капли недостаточно для полного заполнения камеры, то дополняют ее другой каплей;
- после заполнения камеру оставляют на 1–2 мин в покое для оседания форменных элементов крови, а затем помещают ее под микроскоп;
- подсчитывают форменные элементы при малом увеличении микроскопа
- считают эритроциты в 80 малых квадратах, что соответствует 5 большим квадратам, расположенным по диагонали.
- по правилам, счету подлежат эритроциты, лежащие внутри маленького квадрата, и те, которые находятся на левой и верхней его границах.

Подсчитав количество эритроцитов в 80 малых квадратах, рассчитывают по формуле количество эритроцитов в 1 мм³ крови и в 1 литре крови:

Фотометрическое определение числа эритроцитов

- 20 мкл крови, набранной в капиллярную пипетку от гемометра Сали, вносят в 9 мл 3% раствора NaCl;
- содержимое перемешивают и наливают в кювету с толщиной слоя 3 мм;
- измерение производится через 50–60 сек после заполнения кюветы, когда вихревые движения в кювете прекращаются, а оседание эритроцитов еще не началось;
- измеряют экстинкционный коэффициент (E) при длине волны 750 нм, используя в качестве контроля 3% раствор NaCl;
- количество эритроцитов вычисляют по специальной таблице, которую предварительно выводят опытным путем на основании построения калибровочной кривой (сравнивают с камерным методом).

Метод не трудоемок и удобен для серийной работы, однако недостатком его является зависимость результата не только от количества эритроцитов, но и от их размера, а также от концентрации гемоглобина.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ

норма: мужчины — $4,0\text{--}5,0 \times 10^{12}/\text{л}$,

женщины — $3,7\text{--}4,7 \times 10^{12}/\text{л}$.

Уменьшение количества эритроцитов (олигоцитемия = эритропения) характерно для:

- анемий (железодефицитной, гемолитической, гипопластической, В12-дефицитной).

При анемических состояниях количество эритроцитов может понизиться максимально до $0,8\text{--}0,6 \times 10^{12}/\text{л}$;

- острой кровопотери;
- хронических воспалительных процессов;
- гипергидратации;
- приема некоторых лекарственных препаратов (цитостатиков, антибиотиков, анальгетиков, сульфаниламидов);
- поздних сроков беременности;
- употребления бобовых, алкоголя.

Увеличение числа эритроцитов (полицитемия = эритремия) может быть первичным:

- поражение эритропоэза;
- заболевания системы крови;

или вторичным:

- реактивные эритроцитозы, вызванные гипоксией (вентиляционная недостаточность при бронхолегочной патологии, врожденные и приобретенные пороки сердца, пребывание на высоте);
- эритроцитозы, вызванные повышенной продукцией эритропоэтинов (гидронефроз и поликистоз почек, новообразования почек и печени);
- эритроцитозы, связанные с избытком стероидов в организме (болезнь и синдром Кушинга, феохромоцитома, гиперальдостеронизм, лечение стероидами);
- относительные эритроцитозы при дегидратации (острые отравления, ацидозы, ожоги, диарея, прием диуретиков).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Морфологическое исследование красных кровяных телец является ценным дополнением к определению их общего числа и к исследованию гемоглобина.

Оно дает возможность открыть ряд важных в диагностическом и прогностическом отношении патологических изменений в эритроцитах.

Часто не представляется возможным поставить диагноз какогонибудь заболевания крови, а особенно провести дифференциальную диагностику анемий, не зная морфологии красных кровяных телец.

Поэтому картина крови не может считаться полноценной, если в ней нет подробного описания морфологии эритроцитов.

Для клинических целей морфологию эритроцитов лучше всего исследовать на препарате, окрашенном по Романовскому — Гимза.

Техника приготовления препаратов крови и их окраски по Романовскому — Гимза описаны в разделе о морфологии лейкоцитов. В этом случае удачно сделанный мазок и хорошая окраска препарата являются необходимым условием для правильного учета морфологических особенностей.

Анизоцитоз — состояние, при котором одновременно обнаруживаются эритроциты различной величины. Диаметр эритроцитов крови здорового человека равен 6–8 мкм. При анемиях различного характера величина эритроцитов меняется.

Микроциты — эритроциты с диаметром меньше 6 мкм — характерны для железодефицитных анемий, макроциты — эритроциты диаметром больше 9 мкм — наблюдаются при заболеваниях печени (особенно вызванных алкоголем) и после спленэктомии.

Мегалоциты — крупные (около 12 мкм), овальные гиперхромные эритроциты, образующиеся при созревании мегалобластов — появляются в крови при недостатке в организме витамина В12 и фолиевой кислоты.

При патологических условиях созревания эритроцитов наряду с анизоцитозом отмечается изменение их формы — пойкилоцитоз: появляются эритроциты вытянутой, овальной, грушевидной, серповидной, шаровидной формы и т. д.

При недостаточной эритропоэтической функции костного мозга из него поступают в кровь незрелые «ядерные» элементы красной крови — нормобlastы и эритробlastы.

В условиях патологического созревания в эритроцитах могут сохраняться остатки ядра в виде «телец Жолли» — круглых хроматиновых образований диаметром 1–2 мкм, окрашивающихся в вишневокрасный цвет; и «колец Кебота» — остатков оболочки ядра красного цвета, имеющих вид колец, восьмерки и т. д. Встречаются в основном при В12-дефицитной анемии.

Базофильная зернистость эритроцитов представлена в виде синих зернышек. Такие эритроциты встречаются при интоксикациях свинцом или тяжелыми металлами, талассемии, В12- и фолиеводефицитной анемии, алкогольной интоксикации и в результате цитотоксического действия лекарственных препаратов.

ЦВЕТОВОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ 0,85–1,05 Цветовой показатель — это соотношение между количеством гемоглобина и числом эритроцитов. Он показывает степень насыщения эритроцитов гемоглобином. По цветовому показателю судят о том, является ли содержание гемоглобина в эритроцитах нормальным (нормохромным), пониженным (гипохромным), т. е. ниже 0,8, или повышенным (гиперхромным), т. е. выше 1,1.

Гематокрит (*haematokritos*)

мужчины — 40–48 % женщины — 36–42 %

Общий объем эритроцитов (гематокритная величина) дает представление о процентном соотношении между плазмой и форменными элементами крови, что имеет большое значение при болезнях крови и других заболеваниях.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ГЕМАТОКРИТА

норма: у новорожденного — 44–62 %;

у трехмесячного — 32–44 %;

у ребенка в возрасте 1 года — 36–44 %;

у ребенка в возрасте 10 лет — 37–44 %;

у взрослого мужчины — 40–48 %;

у взрослой женщины — 36–42 %.

гематокритная величина повышается при:

- первичных и вторичных эритроцитозах ;

- дегидратации (заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся профузным поносом, рвотой; диабет; чрезмерное потоотделение);
- уменьшении объема циркулирующей плазмы (перитонит, ожоги).

гематокритная величина понижается при:

- анемии. Уменьшение гематокритных величин при анемии движется параллельно с уменьшением количества эритроцитов;
- повышении объема циркулирующей плазмы (сердечнососудистая и почечная недостаточность, поздние сроки беременности, гиперпротеинемии);
- хроническом воспалительном процессе, травме, голодании, хронической гиперазотемии, онкологических заболеваниях;
- гемодилюции (внутривенное введение жидкости, особенно при снижении функциональной способности почек).

Лейкоциты (leucocytes) $4,0\text{--}9,0 \times 10^9/\text{л}$

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ

Норма: $4,0\text{--}9,0 \times 10^9/\text{л}$

Увеличение количества лейкоцитов выше $9,0 \times 10^9/\text{л}$ называется лейкоцитозом, уменьшение их числа ниже $4,0 \times 10^9/\text{л}$ — лейкопенией. Однако даже $3,5 \times 10^9$ в 1 л лейкоцитов для ряда лиц может являться нормой.

По данным литературы, у таких людей повышенна иммунная сопротивляемость и они реже болеют, что, по-видимому, объясняется необходимостью для осуществления иммунных реакций наличия резерва лейкоцитов в тканях, где их в 50–60 раз больше, чем в кровяном русле.

Очевидно, именно у здоровых лиц с низким содержанием лейкоцитов в периферической крови соответственно увеличены резервы их в тканях. Объясняют этот феномен наследственно-семейным характером или повышением влияния парасимпатической нервной системы.

Лейкопения может быть функциональной и органической.

Функциональная лейкопения связана с нарушением регуляции кроветворения и наблюдается:

- при некоторых бактериальных и вирусных инфекциях (брюшной тиф, грипп, оспа, краснуха, болезнь Боткина, корь);
- при действии лекарственных препаратов (сульфаниламидов, анальгетиков, противосудорожных, антитиреоидных, цитостатических и других препаратов);
- при мышечной работе, введении чужеродного белка, нервных и температурных влияниях, голодании, гипотонических состояниях;

- ложная лейкоцитопения может быть связана с агрегацией лейкоцитов во время длительного хранения крови при комнатной температуре (более 4 ч).

Органическая лейкопения, возникающая в результате аплазии костного мозга и замещения его жировой тканью, бывает при:

- апластической анемии;
- агранулоцитозе;
- лейкопенической форме лейкоза;
- некоторых формах лимфогрануломатоза;
- ионизирующем облучении;
- гиперспленизме (первичном и вторичном);
- коллагенозах.

Лейкоцитоз — это реакция кроветворной системы на воздействие экзогенных и эндогенных факторов.

Различают физиологический и патологический лейкоцитоз.

Физиологический лейкоцитоз бывает:

- пищеварительный — после приема пищи, в особенности богатой белками;
- число лейкоцитов не превышает $10,0\text{--}12,0 \times 10^9/\text{л}$ и через 3–4 часа возвращается к норме;
- при эмоциональном напряжении (выделение адреналина), тяжелой физической нагрузке, охлаждении, чрезмерном пребывании на солнце (солнечные ожоги), введении ряда гормонов (катехоламинов, глюкокортикоидов и др.), во второй половине беременности, во время менструаций и обусловлен неравномерным распределением лейкоцитов в кровяном русле.

Патологический лейкоцитоз делится на абсолютный и относительный. Абсолютный — повышение числа лейкоцитов в крови до нескольких сотен тысяч ($100,0\text{--}600,0 \times 10^9/\text{л}$ и более). Наиболее часто наблюдается при лейкозах: при хроническом лейкозе — в 98–100 % случаев, при острых лейкозах — в 50–60 %. Изменение соотношения клеток лейкоцитарного ряда в пунктате костного мозга и в крови служит основой диагностики лейкозов.

Относительный лейкоцитоз наблюдается:

- при острых воспалительных и инфекционных процессах, исключение составляют брюшной тиф, грипп, оспа, краснуха, болезнь Боткина, корь. Наибольший лейкоцитоз ($70,0\text{--}80,0 \times 10^9/\text{л}$) отмечается при сепсисе;
- под влиянием токсических веществ (ядов насекомых, эндотоксинов), ионизирующей радиации (сразу после облучения);
- в результате действия кортикостероидов, адреналина, гистамина, ацетилхолина, препаратов наперстянки;
- при распаде ткани (некрозе), инфаркте миокарда, тромбозе периферических артерий с развитием гангрены, ожогах, экссудативном плеврите, перикардите, уремии, печеночной коме;
- значительных кровопотерях при ранениях, внутренних, гинекологических и других кровотечениях.

Повышение числа лейкоцитов при инфекционных заболеваниях в большинстве случаев сопровождается сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА

нейтрофилы:

-юные 0 %

-палочкоядерные 1–6 % (0,040–0,300 $\times 10^9/\text{л}$)

-сегментоядерные 47–72 % (2,0–5,5 $\times 10^9/\text{л}$)

эозинофилы 0,5–5 % (0,020–0,300 $\times 10^9/\text{л}$)

базофилы 0–1 % (0–0,065 $\times 10^9/\text{л}$)

лимфоциты 19–37 % (1,200–3,000 $\times 10^9/\text{л}$)

моноциты 3–11 % (0,090–0,600 $\times 10^9/\text{л}$)

Лейкоцитарной формулой называется процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов крови.

Лейкоциты можно классифицировать:

- по происхождению (*миелиодные и лимфоидные*);
- по функции (*фагоциты или иммуноциты*);
- по морфологии (*строение ядра и наличие цитоплазматических включений*).
- моноциты.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ ЧЕЛОВЕКА

Лейкоцитарную формулу подсчитывают в окрашенных мазках. Для достаточно точного ее вычисления необходимо просмотреть не менее 200 лейкоцитов.

Техника приготовления мазка

- Мазок крови делают на обезжиренном предметном стекле;
- место прокола пальца вытирают сухим шариком ваты и наносят каплю крови на предметное стекло в 1,5–2 см от его края;
- шлифованное предметное стекло со срезанными углами устанавливают перед каплей крови под углом 45° и делают небольшое движение к капле, чтобы кровь растеклась по ребру шлифованного стекла равномерно;
- затем без нажима проводят ребром шлифованного стекла по предметному стеклу, равномерно распределя кровь; мазок должен быть тонким и ровным;
- мазок высушивают на воздухе и фиксируют в метиловом спирте в течение 3–5 мин или в растворе эозинметиленового синего по Май — Грюнвальду — 5–10 мин;
- затем мазок красят по Романовскому — Гимза в течение 30– 40 мин, после чего излишки краски смывают водопроводной водой и мазок высушивают.

Краситель Романовского — Гимза (заводского приготовления) имеет следующий состав: азура II — 3 г; водорастворимого желтого эозина — 0,8 г; глицерина — 250 мл; метилового спирта — 250 мл (основной раствор).

Перед началом работы из него extempore готовят рабочий раствор путем разведения 1–2 капель основного раствора на 1 мл дистиллированной воды.

Можно использовать комбинированную окраску по Паппенгейму: на нефиксированный мазок наливают пипеткой готовый краситель-фиксатор Май — Грюнвальда. Через 3 мин к покрывающей мазок краске добавляют равное количество дистиллированной воды и продолжают окрашивание еще 1 мин. После этого краску смывают и мазок высушивают на воздухе. Затем высушенный мазок докрашивают

свежеприготовленным водным раствором краски Романовского в течение 8–15 мин. Этот метод считается наилучшим, особенно для окраски мазков костномозговых пунктатов;

- изучение мазка проводится под микроскопом (иммерсионная система, объектив х90, окуляр х7 или х10; конденсор должен быть поднят, а диафрагма полностью раскрыта).

Порядок подсчета

- На четыре краевых участка мазка наносят каплю иммерсионного масла. Один из этих участков устанавливают в поле зрения;
- передвижение мазка под окуляром микроскопа должно производиться по зигзагообразной линии. Это необходимо для получения более точных результатов подсчета каждого вида лейкоцитов, т. к. они распределяются по поверхности мазка неравномерно, а именно: более тяжелые — базофилы, эозинофилы и моноциты — ближе к краям, а более легкие — лимфоциты — ближе к центру;
- сначала необходимо научиться различать отдельные виды лейкоцитов, обращая внимание на форму ядра в зернистых и незернистых лейкоцитах, на окраску и величину ядер в протоплазме зернистых лейкоцитов, убедиться в отсутствии ядра в эритроцитах;
- на лист бумаги наносят графы с названием главных форм лейкоцитов; каждый обнаруженный в поле зрения лейкоцит отмечают точкой или черточкой в соответствующей графе;
- удобнее всего для подсчета пользоваться одиннадцатиклавишным счетчиком;
- для большей точности считают 200 лейкоцитов — по 50 клеток в начале и конце мазка, по его верхнему и нижнему краям.
- чтобы получить процентное содержание в крови данного вида лейкоцитов, необходимо количество клеток в каждой графе разделить на 2, т. к. было подсчитано 200 клеток.

МОРФОЛОГИЯ И ФУНКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

Лейкоциты являются элементами крови, которые быстро реагируют на различные внешние воздействия и изменения внутри организма. Поэтому сдвиги в лейкоцитарной формуле имеют большое диагностическое значение.

Нейтрофилы (neutrophilus)

Нейтрофилы — крупные клетки (диаметром 10–15 мкм) с резко обрисованным темным ядром. При окрашивании по Романовскому — Гимза они имеют слегка розоватого цвета цитоплазму, наполненную мелкими зернышками розовато-фиолетового цвета. Сегментоядерные нейтрофилы имеют ядро в виде 2–5 сегментов, связанных друг с другом тонкими нитями.

Молодые формы нейтрофильных лейкоцитов — палочкоядерные нейтрофилы — имеют ядро в виде палочки или подковы, не разделенное на отдельные участки. Юные формы имеют большое колесовидное или палочкообразное ядро.

Гранулы (в зависимости от строения и химического состава) делятся на:

1. *Азурофильные* или *первичные* — по мере созревания клетки их число уменьшается и в зрелых нейтрофилах составляет 10–20 % от общего числа гранул. Представляют собой разновидность первичных лизосом и содержат типичные для лизосом гидролитические ферменты — кислую фосфатазу, β -глюкуронидазу, кислую β -глицерофосфатдегидр огеназу, кислую протеазу, арилсульфатазу. Кроме того, первичные гранулы содержат миелопероксидазу и муромидазу (лизоцим), оказывающие бактерицидное действие.

2. *Специфические нейтрофильные* или *вторичные гранулы* — их количество возрастает по мере специализации клетки и во взрослых нейтрофилах составляет овальную или гантелеобразную форму. В них отсутствуют лизосомальные ферменты и пероксидаза, но присутствуют щелочная фосфатаза, основные катионные белки, фагоцитины, лактоферрин, лизоцим, аминопептидазы.

Таким образом, маркерами специфических нейтрофильных гранул могут служить щелочная фосфатаза и катионные белки, а азурофильных гранул — кислая фосфатаза и миелопероксидаза.

Продолжительность жизни нейтрофильных гранулоцитов в среднем 14 дней, из них 5–6 дней они созревают и задерживаются в синусах костного мозга, от 30 минут до двух дней циркулируют в периферической крови, 6–7 дней находятся в тканях, откуда они уже не возвращаются в кровяное русло.

Важнейшей функцией нейтрофилов является защита организма от инфекций. Этот процесс включает фагоцитоз, выработку ряда ферментов, оказывающих бактерицидное действие и хемотаксис — способность проходить через базальные мембранны между клетками и целенаправленно перемещаться по основному веществу соединительной ткани к микроорганизмам и очагам воспаления.

Биологическое значение нейтрофилов заключается в том, что они доставляют в очаг воспаления большое количество разнообразных протеолитических ферментов, играющих важную роль в процессах рассасывания некротических тканей.

Нейтрофилы могут также выделять в кровь вещества, обладающие бактериальными и антитоксическими свойствами, а также пирогенные вещества, вызывающие лихорадку, и вещества, поддерживающие воспалительный процесс.

В нейтрофильных гранулоцитах обнаружены вещества, обладающие тромбопластиновой активностью, а наличие в них катепсинов и трипсина способствует участию в процессах фибринолиза.

Норма: юные

—90 % от общего числа гранул. Имеют округлые палочки. Нейтрофилы являются наиболее изменчивой группой лейкоцитов. Повышение числа нейтрофилов (нейтрофиля) наблюдается при общем повышении числа лейкоцитов:

- острый или хронический лейкоз;
- острые воспалительные заболевания;
палочкоядерные — 1–6 % ($0,040\text{--}0,300 \times 10^9/\text{л}$)
сегментоядерные — 47–72 % ($2,0\text{--}5,5 \times 10^9/\text{л}$)
- интоксикации;
- шок;
- кровотечения;
- инфаркт миокарда;
- гемолитические кризы.

При этом может повышаться содержание палочкоядерных нейтрофилов, обнаруживается появление незрелых гранулоцитов (миелоциты, метамиелоциты), что расценивается как сдвиг лейкоцитарной формулы влево.

Различают *регенераторный*, *дегенераторный* и *лейкемоидный* левые сдвиги нейтрофилов.

В первом случае отмечаются описанные выше изменения — увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов, появление юных форм (метамиелоцитов) на фоне лейкоцитоза.

При *дегенераторном* сдвиге в отсутствии лейкоцитоза наблюдается увеличение числа только палочкоядерных форм с дегенеративными изменениями в нейтрофилах (вакуолизация цитоплазмы, пиктоз

ядра и т. д.). Регенераторный сдвиг свидетельствует об активной защитной реакции организма, дегенераторный — об отсутствии таковой. Наиболее часто регенераторный сдвиг появляется при наличии воспалительного процесса или очага некроза.

Очень резкий сдвиг влево до промиелоцитов и даже миелобластов при значительном лейкоцитозе носит название *лейкемоидной* реакции. Обычно наблюдается в случае тяжелого течения инфекционного процесса (сепсиса, перитонита, туберкулеза) при достаточно высоком уровне общей сопротивляемости организма, а также злокачественных опухолях с метастазами в костный мозг.

При сдвиге лейкограммы вправо преобладают зрелые формы с 5–8 сегментами. Сдвиг вправо встречается у 20 % здоровых людей. При инфекционных заболеваниях появление правого сдвига обычно указывает на благоприятное течение заболевания. Гиперсегментация и уменьшение количества палочкоядерных нейтрофилов встречается также при пернициозной анемии.

При эмоциональном напряжении, после приема пищи, введения ряда гормонов (catecholaminов, глюкокортикоидов и др.) происходит перераспределительный лейкоцитоз, т. е. нейтрофилы из пристеночного (маргинального) пула поступают в центральный, находящийся в центре кровотока.

Нейтропения — снижение количества нейтрофилов ниже $1,8 \times 10^9/\text{л}$. Выраженность нейтропении может зависеть от расовой принадлежности: нейтропенией у лиц белой расы следует считать снижение количества нейтрофилов ниже $1,8 \times 10^9/\text{л}$, а у чернокожих — ниже $1,4 \times 10^9/\text{л}$.

Уменьшение числа нейтрофилов — *абсолютная нейтропения* — возникает при:

- угнетающем костный мозг воздействии токсинов некоторых микробов (возбудителей брюшного тифа, малярии, туберкулеза, бруцеллеза, сальмонеллеза, лейшманиоза и т. д.) и вирусов (гепатит, корь, грипп, краснуха, оспа, ВИЧ);
- угнетающем костный мозг воздействии ионизирующей радиации;
- угнетающем костный мозг воздействии ряда лекарственных препаратов (сульфаниламиды, анальгетики, противосудорожные, антитиреоидные, цитостатики);
- ревматоидном артрите, системной красной волчанке;
- апластических и В12-дефицитных анемиях, агранулоцитозе;
- гиперспленизме;
- наследственных формах (синдром Костмана, циклическая нейтропения и).

Развитию нейтропении способствует алкоголизм, диабет, тяжелый шок.

Эозинофилы (*eosinophilus*)

Эозинофилы — большие клетки с двух-, трехлопастным ядром и с крупной зернистостью в цитоплазме. Диаметр клетки около 15 мкм. При окрашивании по Романовскому зернистость приобретает ярко-красный цвет эозина или более бледную окраску (цвета мяса). Если препарат перекрашен, зерна приобретают коричнево-красный или коричневый цвет.

Специфические окси菲尔льные гранулы овальной или полигональной формы содержат основной белок, богатый аргинином, также содержат гидролитические ферменты, пероксидазу, подобно лизосомам нейтрофилов и кислую фосфатазу (в поверхностной части), эстеразу, гистаминалазу.

Основные функции эозинофилов осуществляются не в кровяном русле, а в тканях.

Эозинофилы, наряду с другими лейкоцитами, способны к фагоцитозу, принимают участие в дезинтоксикации продуктов белковой природы и играют значительную роль в аллергических реакциях организма.

Эозинофилы инактивируют гистамин с помощью фермента гистаминазы. Не обладая способностью синтезировать гистамин, они могут накапливать его, фагоцитируя гистаминсодержащие гранулы, выделяемые базофилами и тучными клетками, а также адсорбировать его на цитолемме. Кроме того, эозинофилы вырабатывают специальный фактор, тормозящий освобождение гистамина из базофилов и тучных клеток.

Участие эозинофилов в развитии иммунитета при гельминтозах заключается в киллерном (цитотоксическом) эффекте этих клеток, поэтому гиперэозинофилю при гельминтозах следует рассматривать как защитную реакцию.

Норма: 0,5–5 % ($0,020\text{--}0,300 \times 10^9/\text{л}$)

Эозинофилия — увеличение количества эозинофилов выше 5–6 %.

Наблюдается при:

- различных аллергических заболеваниях и синдромах (бронхиальной астме, крапивнице, гельминтозах, зудящих дерматитах, экземе, отеке Квинке);
 - неврозах;
 - токсикозах;
 - гельминтозах;
 - лимфогранулематозе;
 - хроническом миелолейкозе (в сочетании с базофилией);
 - ревматизме;
 - лечении некоторыми антибиотиками и сульфаниламидными препаратами;
-
- в период выздоровления от сепсиса, крупозной пневмонии и других инфекций.

Эозинопения — уменьшение количества эозинофилов — отмечается: $\frac{3}{4}$ на высоте острых инфекционных заболеваний;

- при сепсисе;
- при тяжелых формах туберкулеза;
- при тифе;
- при интоксикациях;
- при пернициозной анемии.

Эозинопения в сочетании с лейкопенией является неблагоприятным признаком и служит показателем снижения сопротивляемости организма при перечисленных заболеваниях.

Базофилы (basophilus)

Базофилы — клетки диаметром 9–14 мкм с сегментированным ядром, чаще неправильной лопастной формы, интенсивно окрашенным в темно-фиолетовый цвет. Цитоплазма базофилов заполнена крупными округлыми или полигональными гранулами, окрашивающимися по Романовскому в синий цвет. В гранулах содержатся гепарин, гистамин, серотонин, пероксидаза, кислая фосфатаза, гистидиндекарбоксилаза (фермент синтеза гистамина). Имеются также азурофильтные гранулы — лизосомы.

Базофилы, наряду с эозинофилами, участвуют в аллергических ре-акциях организма, а также в обмене гистамина и гепарина. Вазоактивные амины базофилов и тучных клеток могут способствовать отложению иммунных комплексов в стенках сосудов и развитию патологии иммунных комплексов.

Основная функция базофилов — участие в иммунологических реакциях немедленного и замедленного типа. Фагоцитарная активность базофилов выражена слабо.

Норма: 0–1 % ($0\text{--}0,065 \times 10^9/\text{л}$)

Базофилы являются носителями важных медиаторов тканевого обмена. Число их увеличивается (*базофилия*) при:

- острых реакциях повышенной чувствительности (например, аллергических реакциях по типу крапивницы);
- вакцинации чужеродными сыворотками;
- гемофилии;
- вирусных заболеваниях (ветряная оспа, грипп);
- хронических инфекциях (туберкулез);
- воспалительных процессах (ревматоидный артрит, язвенный колит);
- хроническом миелолейкозе (в сочетании с эозинофилией), лимфогрануломатозе;
- в результате действия эстрогенов, антитиреоидных препаратов.

Уменьшение количества базофилов (*базопения*) отмечается при:

- острых инфекциях;
- гипертиреозе;
- овуляции, беременности;
- стрессе;
- синдроме Кушинга и в результате действия кортикоидных препаратов.

Лимфоциты (lymphocytes)

Лимфоциты — небольшие клетки (диаметром 7–12 мкм) с округлым или бобовидной формы компактным ядром, занимающим большую часть клетки. Цитоплазма, окрашивающаяся в нежно-голубой цвет, не имеет зернистости. Характерной чертой лимфоцита является светлая зона вокруг ядра. У некоторых лимфоцитов в цитоплазме имеется несколько крупных вишнево-красных (азурофильных) зерен (лизосом).

Лимфоциты крови здоровых людей можно разделить на 4 группы:

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

Лимфоциты, циркулирующие в крови, выполняют различные функции. Большинство их относится к Т-лимфоцитам — 50–70 %, меньшую часть составляют В-лимфоциты — 15–25 %. Морфологически Т- и В-лимфоциты у человека неразличимы.

Тимусзависимые лимфоциты (Т-лимфоциты), образующиеся из стволовых клеток костного мозга в тимусе, обеспечивают реакции клеточного иммунитета и регуляцию гуморального иммунитета. В зависимости от участия в иммунологической реакции Т-лимфоциты делят на две основные группы.

Первую группу составляют: клетки иммунологической памяти, т. е. узнающие чужеродный антиген и дающие сигнал к началу иммунологической реакции (антитело-реактивные клетки);

- Т-киллеры (цитотоксические клетки, уничтожающие клетки трансплантата и мутантные клетки организма, в т. ч. опухолевые).