

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 иммунопоза (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 тетрамер гемоглобина может обратимо связывать и транспортировать не более 4-х молекул кислорода. 65 % гемоглобина образуется в эритроците в ядросодержащих 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 перелить 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 волны 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 граммах (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).

Наблюдается 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, левомецетин, 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 ($\text{HbO}_2 \leftrightarrow \text{Hb}$). Удаление углекислого газа из тканей происходит путем его присоединения к свободным аминным группам глобина и при этом образуется карбаминогемоглобин (карбгемоглобин). Окись углерода (СО) 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 метгемоглобинообразователям относятся нитриты, нитраты, присутствующие в избыточном количестве в воде, в пище, ряд лекарственных препаратов. Гемоглобин, соединяясь с различными сульфопроизводными в комплексы, образует сульфметгемоглобин.

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 сульфметгемоглобин является маркером экологической обстановки.

Диагностическое значение имеет определение гликозилированных гемоглобинов, образующихся в результате комплексования гемоглобина с различными углеводородами. 95 % от общего количества гликозилированных гемоглобинов приходится на долю гемоглобина A1c, образующегося в результате комплексования 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 М, 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 (erythrocytus)

мужчины — $4,0-5,0 \times 10^{12}/л$

женщины — $3,7-4,7 \times 10^{12}/л$

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 осциллополическом 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 выдувают 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 (Е) 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 бронхо-легочной 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 какому-либо заболеванию 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 удачный 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 — нормобласты и эритробласты.

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 фолиевоедефицитной 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*) $4,0-9,0 \times 10^9/\text{л}$

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: $4,0-9,0 \times 10^9/\text{л}$

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 повышена 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, антигистаминных, 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 лимфогранулематоза;
- 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, глюкокортикостероидов 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 (до $70,0\text{--}80,0 \times 10^9/\text{л}$) 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 % ($0,040\text{--}0,300 \times 10^9/\text{л}$)

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

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

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

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

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

Лейкоцитарной формулой называется процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов крови.

Лейкоциты можно классифицировать:

- по происхождению (*миелоидные 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 распределяя 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 докрасивают

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 x90, окуляр x7 или x10; 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 -глицерофосфатдегидрогеназу, 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 гантелевидную 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 мембраны 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 (нейтрофилия) 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 (катехоламинов, глюкокортикостероидов 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, антигипертензивные, 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 оксифильные 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, гистаминазу.

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 гиперэозинофилию 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 азурофильные 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 % ($0-0,065 \times 10^9/\text{л}$)

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), лимфогранулематозе;
- в результате действия эстрогенов, антигистаминных препаратов.

Уменьшение количества базофилов (*базопения*) отмечается при:

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

Лимфоциты (lymphocytus)

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 %);
- лимфоплазмциты (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 (антигенреактивные клетки);

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