

А.А. КИШКУН

РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНЫМ МЕТОДАМ ДИАГНОСТИКИ

2-е издание, переработанное и дополненное



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2013

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гематологические анализы более 100 лет используются в клинической практике. Однако, несмотря на такой длительный срок, многие из них не утратили своего значения и в настоящее время. Гематологические исследования представляют информацию о количестве клеток крови и их характеристиках. Оснащение клинико-диагностических лабораторий современными гематологическими автоанализаторами, которые могут представлять информацию более чем о 30 параметрах и характеристиках клеток крови, позволило значительно повысить клиническую информативность и точность результатов гематологических исследований.

Из всех лабораторных исследований наиболее часто в клинической практике назначается общий анализ крови. Его результаты отражают как часто встречающиеся, так и менее распространенные нарушения здоровья человека, которые могут проявляться отклонениями многих параметров общего анализа крови от нормы. Во многих случаях общий анализ крови играет большую роль в постановке диагноза, а при заболеваниях системы кроветворения ему отводится ведущая роль.

1.1. ОСНОВЫ КРОВЕТВОРЕНИЯ

Кровь — это разновидность ткани, состоящая из плазмы (жидкой части) и форменных элементов (клеток). Форменные элементы можно поделить на три группы: 1) эритроциты, 2) лейкоциты и 3) тромбоциты. В сущности, эритроциты и тромбоциты не являются клетками, так как не имеют ядер, поэтому мы и говорим не «клетки крови», а «форменные элементы крови».

Кроветворение (*haemopoiesis*, *haemopoiesis*; син. гемопоэз) — процесс образования, развития и созревания клеток крови. Процесс воспроизводства клеток крови происходит в костном мозге. В раннем детском возрасте все кости содержат костный мозг, способный вырабатывать клетки крови. К 18 годам развития организма человека этот процесс ограничен костным мозгом ребер, грудины, лопаток, костями таза, скел и эпифи-

зами длинных костей бедер и плеч. Все клетки крови происходят от так называемых плюрипотентных (полипотентных) стволовых клеток костного мозга, которые затем превращаются в зрелые эритроциты, гранулоциты (нейтрофилы), моноциты, лимфоциты и тромбоциты (рис. 1.1).

Стволовые клетки закладываются в эмбриогенезе в относительно небольшом количестве (порядка сотен тысяч — миллионов). По мере необходимости эти клетки одна за другой вступают в дифференцировку, образуя категорию более дифференцированных кроветворных клеток.

Были выделены следующие классы стволовых клеток: стволовая клетка первого класса (полипотентная стволовая клетка, так как обладает потенциями к дифференцировке во все ряды гемопоэза). Показано, что стволовая полипотентная клетка практически бессмертна, ее количество делений во времени значительно превышает человеческую жизнь. Следующий класс — частично детерминированных стволовых клеток — стволовые клетки, которые могут дифференцироваться либо в сторону миелопоэза, либо в сторону лимфопоэза. Унипотентные стволовые клетки — клетка-предшественница эритропоэза, грануломонопоэза, тромбопоэза, клетки-предшественницы В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов. Дифференцировка стволовой кроветворной клетки в первые морфологически распознаваемые клетки того или иного ряда представляет собой многостадийный процесс, ведущий к значительному увеличению численности каждого из рядов (см. рис. 1.1). На этом пути происходит постепенное ограничение способности клеток-предшественниц к различным дифференцировкам и постепенное снижение их пролиферативного потенциала.

Последними клетками, способными к делению, среди гранулоцитов являются миелоциты, а среди эритрокариоцитов — полихроматофильные нормоциты.

В эритроцитопоэзе самой молодой клеткой является эритробласт (его называют также про-эритробластом), который имеет бластную структуру и обычно круглое ядро. Их называют как нормобластами, так и эритробластами. Поскольку для других рядов термин «бласт» применяется

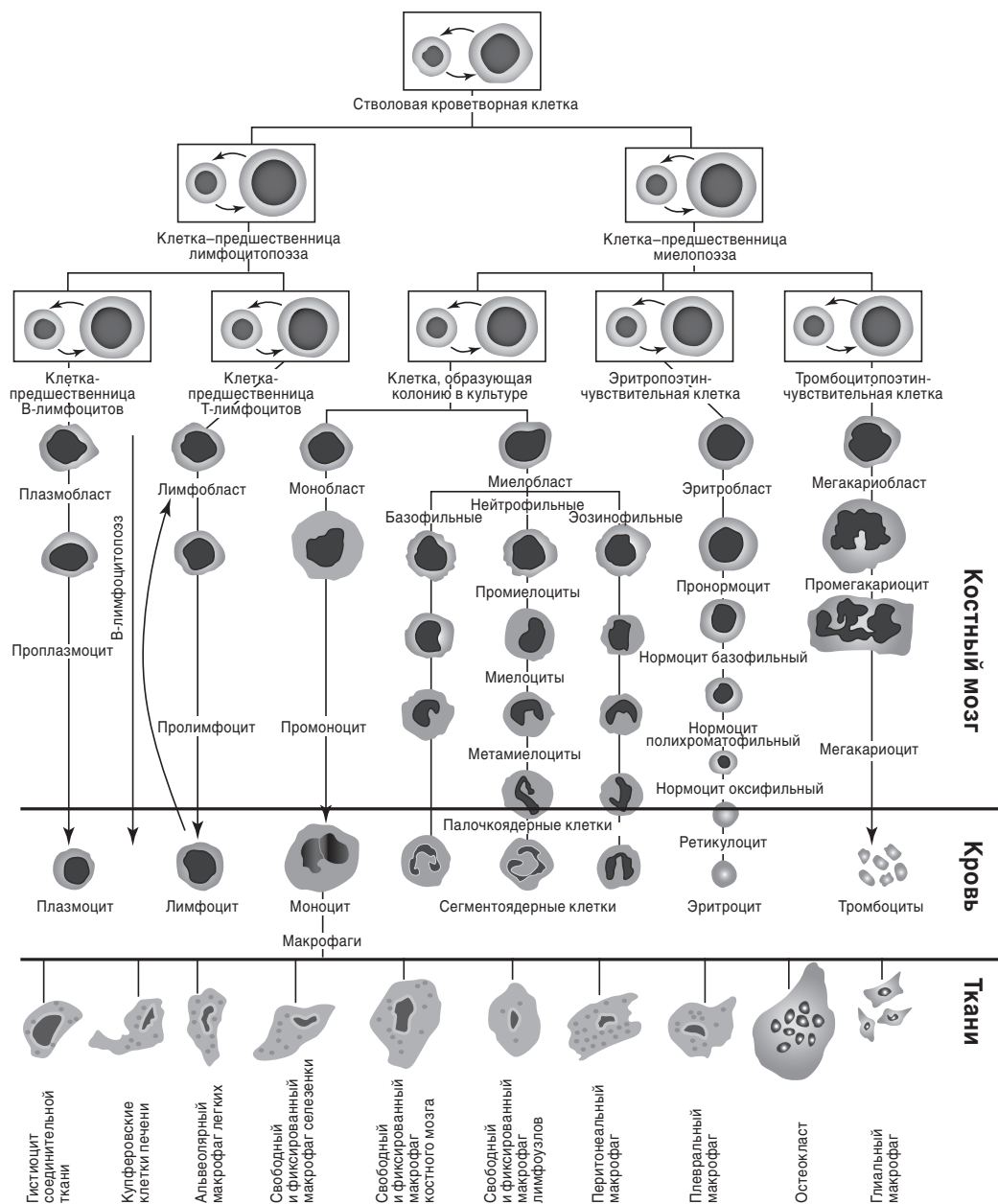


Рис.1.1. Схема кроветворения

лишь для клеток-родоначальниц того или иного ростка (отсюда и название «бласт» — росток), все клетки, являющиеся потомством эритроблеста, должны иметь в названии окончание «цит». Поэтому термин «нормобласты» был заменен на «нормоциты».

За эритробластом появляется пронормоцит, который отличается от эритробласта более грубым строением ядра. Диаметр ядра меньше, чем у эритробласта, ободок цитоплазмы шире, видна перинуклеарная зона просветления. Далее следует базофильный нормоцит, у которого грубо-глыбчатое ядро имеет колосовидную структу-

ру, а цитоплазма окрашена в темно-синий цвет. Следующий — полихроматофильный нормоцит отличается еще более плотной структурой ядра; цитоплазма занимает большую часть клетки и имеет базофильную (за счет структур, содержащих РНК) и оксифильную (в связи с появлением достаточного количества гемоглобина) окраску.

Оксифильный, или ортохромный, нормоцит содержит маленькое плотное ядро, оксифильную или с базофильным оттенком цитоплазму. В норме оксифильных нормоцитов сравнительно мало, так как, утрачивая на этой стадии ядро, клетка превращается в эритроцит, но в «новорож-

денном» эритроците всегда сохраняются остатки базофилии за счет небольшого количества РНК, которая исчезает в течение первых суток. Такой эритроцит с остатками базофилии называется полихроматофильным эритроцитом. При применении специальной прижизненной окраски базофильное вещество выявляется в виде сеточки; тогда эту клетку называют ретикулоцитом.

Процесс развития от стволовой клетки до зрелого эритроцита сопровождается следующими изменениями:

- постепенным уменьшением размера клетки;
- потерей ядра и, следовательно, способности к делению;
- потерей внутриклеточных органелл;
- постепенным заполнением клетки гемоглобином.

Стадия созревания ретикулоцита в эритроцит происходит как в костном мозге, так и в периферической крови. Поэтому обычно 1–2% циркулирующих в крови эритроцитов являются ретикулоцитами. Никаких более ранних форм эритроцитов кровь в норме не содержит.

Как и эритроциты, тромбоциты происходят из стволовой клетки костного мозга. Самой молодой клеткой тромбоцитопоэза является мегакариобласт — одноядерная небольшая клетка с крупным бластным ядром. Внутри костного мозга мегакариобласты постепенно превращаются в мегакариоциты. Тромбоциты образуются из цитоплазмы этих клеток в костном мозге, а затем выходят в кровь. Каждый мегакариоцит дает начало примерно 4000 тромбоцитов.

В отличие от эритроцитов, популяция которых в периферической крови является однородной, лейкоциты представлены пятью типами клеток, различных по морфологическим и функциональным признакам. Это нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты. Поэтому лейкоцитопоэз включает гранулоцитопоэз, лимфоцитопоэз и моноцитопоэз.

В гранулоцитарном ряду миелобласт представляет первую морфологически различимую клетку. Он имеет нежноструктурное ядро, единичные нуклеолы. На следующей стадии гранулоцитопоэза обнаруживается промиелоцит — нейтрофильный, эозинофильный и базофильный. Круглое или бобовидное ядро промиелоцита больше ядра миелобласта почти вдвое. Площадь цитоплазмы примерно равна площади ядра; цитоплазма обильно насыщена зернистостью, имеющей характерные для каждого ряда особенности. Для нейтрофильного ряда промиелоцит является самой зернистой клеткой. Его зернистость

полиморфная: крупная и мелкая; окрашивается и кислыми, и основными красителями. В промиелоците зернистость часто располагается также на ядре. Зернистость эозинофильного промиелоцита, обладая характерной для эозинофилов однотипностью зерен (типа кетовой икры), вместе с тем окрашивается как кислыми, так и основными красителями. Базофильный промиелоцит имеет крупную полиморфную базофильную зернистость.

Миелоцит представляет собой клетку с круглым или овальным, часто эксцентрически расположенным ядром. Цитоплазма окрашена в серовато-синеватый тон, ее зернистость у нейтрофильного миелоцита мельче, чем у промиелоцита. Относительная площадь цитоплазмы увеличивается. Эозинофильный миелоцит имеет характерную однотипную оранжево-красную зернистость, базофильный миелоцит — полиморфную крупную базофильную зернистость.

Метамиелоцит характеризуется бобовидным крупноглыбчатым ядром, расположенным обычно эксцентрично. Площадь его цитоплазмы больше площади ядра; цитоплазма содержит ту же зернистость, что и миелоцит, но в нейтрофильных метамиелоцитах она более скудная, чем в миелоцитах. В палочкоядерных клетках (гранулоцитах) хроматин ядра более плотно упакован, ядро вытягивается, иногда в нем намечается образование сегментов. В зрелых сегментоядерных клетках ядро обычно имеет от 2 до 5 сегментов.

Моноцитарный ряд представлен довольно простыми стадиями перехода. Монобласт в норме трудно отличить от миелобласта или недифференцируемого бласта. Промоноцит имеет ядро промиелоцита, но лишен зернистости. Моноциты — наиболее крупные клетки крови; из них происходят макрофаги.

Все клетки иммунной системы происходят из стволовых клеток костного мозга. В костном мозге происходит раннее, антигеннезависимое созревание и дифференцировка части лимфоцитов. Эти лимфатические клетки, находящиеся или поступившие в кровь и ткани из костного мозга, относятся к В-лимфоцитам (В — начальная буква от английского названия костного мозга — bone-marrow). В-лимфоциты ответственны за гуморальный иммунитет, т.е. выработку антител. В-лимфоциты в результате антигенной стимуляции могут из морфологически зрелой клетки превращаться в бластную форму и дальше дифференцироваться в клетки плазматического ряда. Из стволовых кроветворных клеток костного мозга формируются стволовые лимфоидные клетки —

предшественники Т-лимфоцитов. Последние мигрируют в тимус, где под влиянием гормонов тимуса (тимозина) и происходит их окончательная дифференцировка в зрелые Т-лимфоциты (Т — начальная буква от английского названия тимуса — thymus). Т-лимфоциты обеспечивают клеточный иммунитет, участвуют в реакции отторжения чужеродной ткани.

Плазмобласт имеет бластное ядро, беззернистую фиолетово-синюю цитоплазму. Проплазмобласт по сравнению с плазмобластом обладает более плотным ядром, расположенным обычно эксцентрично, относительно большей цитоплазмой сине-фиолетового цвета. Плазмобласт отличается колесовидным плотным ядром, лежащим эксцентрично: цитоплазма сине-фиолетовая, иногда с несколькими азурофильными красноватыми гранулами. И в норме, и при патологии он может быть многоядерным.

Образующиеся в костном мозге клетки равномерно поступают по мере созревания в кровеносное русло. При этом продолжительность жизни клеток в кровотоке разная. Так, для эритроцитов она составляет около 120 дней, тромбоцитов — 10 дней, нейтрофилов — 10 ч. Поэтому костный мозг обеспечивает их постоянное воспроизводство.

Для поддержания клеточного состава крови на должном уровне в организме взрослого человека с массой тела 70 кг ежедневно должно вырабатываться 2×10^{11} эритроцитов, 45×10^9 нейтрофилов и 175×10^9 тромбоцитов. В обычных условиях костный мозг не только покрывает потребности организма, но и производит довольно большой запас клеток: зрелых нейтрофилов в костном мозге содержится в 10 раз больше, чем в кровеносном русле, а ретикулоцитов имеется трехдневный запас. В среднем у человека за 70 лет жизни вырабатывается 460 кг эритроцитов, 5400 кг гранулоцитов, 275 кг лимфоцитов и 40 кг тромбоцитов.

Стволовые кроветворные клетки в стадии созревания находятся под строгим регулирующим контролем, механизм которого изучен не полностью. На ранних этапах созревания важное значение имеют локальные факторы, продуцируемые стромальными клетками, т.е. кроветворным микроокружением. Влияние микроокружения осуществляется путем взаимодействия стромальных и кроветворных (в первую очередь стволовых) клеток. Такие регуляторные взаимодействия требуют прямых клеточных контактов. При этом образуются своеобразные структуры — клеточные островки, представляющие собой группы кроветворных клеток, которые лежат в сети отростков ретикулярных клеток, адвенти-

циальных клеток синусов костного мозга. В регуляции кроветворения принимают участие также цитокины (интерлейкины, колониестимулирующий фактор, факторы роста), гормоны и другие гуморальные факторы, например гемопоэтины, к которым относят эритропоэтины, лейкопоэтины, тромбопоэтины.

В регуляции процесса воспроизводства эритроцитов важную роль играет гормон, синтезируемый в почках, — эритропоэтин. В ответ на снижение уровня кислорода в артериальной крови (кислород связывается кровяным пигментом эритроцитов — гемоглобином, поэтому снижение уровня кислорода в артериальной крови в физиологических условиях зависит в основном от содержания гемоглобина, т.е. количества эритроцитов) почки синтезируют эритропоэтин, который с кровью поступает в костный мозг. Костный мозг увеличивает воспроизводство эритроцитов. Их количество в крови увеличивается, и соответственно возрастает количество переносимого ими кислорода. В регуляции воспроизводства гранулоцитов и тромбоцитов участвуют различные гемопоэтические ростовые факторы.

После выполнения своих функций в течение 120-дневного срока жизни эритроциты удаляются из крови селезенкой и другими клетками ретикулоэндотелиальной системы.

1.2. ОБЩИЙ АНАЛИЗ КРОВИ

Общий анализ крови является одним из важнейших диагностических исследований, которое тонко отражает реакцию кроветворных органов при воздействии на организм различных физиологических и патологических факторов.

В понятие «общего анализа крови» входят исследования следующих основных показателей: концентрация гемоглобина, количество эритроцитов, цветовой показатель, количество лейкоцитов и тромбоцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и лейкоцитарная формула крови. В необходимых случаях дополнительно определяют количество ретикулоцитов.

В настоящее время большинство показателей, входящих в общий анализ крови, определяют на автоматических гематологических анализаторах, которые в состоянии одновременно определять от 5 до 36 параметров. Из них основными являются концентрация гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов, средний объем эритроцита, средняя концентрация гемоглобина в эритроци-

те, среднее содержание гемоглобина в эритроците, полуширина распределения эритроцитов по размерам, количество тромбоцитов, средний объем тромбоцита, количество лейкоцитов. Кроме того, многие анализаторы способны дифференцировать лейкоциты по трем фракциям (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты), а ряд анализаторов и по 5 фракциям (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, лимфоциты и моноциты). При этом количество различных форм клеток, относящихся к лейкоцитам, выражается на бланке результатов в абсолютных и относительных значениях. Нередко на бланке результатов анализов все эти показатели приводятся в виде сокращенных названий или обозначений на русском или английском языке. Врач в своей работе постоянно сталкивается с такими обозначениями и сокращениями, поэтому должен знать, что означает каждый показатель. В табл. 1.1 приведены основные показате-

ли, входящие в общий анализ крови и определяемые с помощью гематологических анализаторов, их английское и русское выражение.

1.2.1. ЭРИТРОЦИТЫ, ГЕМОГЛОБИН, ГЕМАТОКРИТ И ИНДЕКСЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Количество эритроцитов, концентрация гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцита, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, среднее содержание гемоглобина в эритроците, полуширина распределения эритроцитов по размерам являются важными составляющими общего анализа крови. Они позволяют оценивать функции эритроцитов и гемоглобина. Однако наибольшую ценность приведенные показатели имеют для диагностики и установления формы анемии (малокровия).

Таблица 1.1

Основные показатели, входящие в общий анализ крови

Показатель	Что отражает	Английское название показателя
Количество эритроцитов	Концентрацию эритроцитов в крови	RBC (red blood cells — красные кровяные клетки)
Гемоглобин	Концентрацию гемоглобина в крови	Hb (hemoglobin)
Гематокрит	Процентную долю эритроцитов в цельной крови	Ht
Средний объем эритроцита	Средний объем эритроцита	MCV (mean corpuscular volume)
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	Среднее содержание гемоглобина в эритроците	MCH (mean corpuscular hemoglobin)
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците	Среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците	MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration)
Показатель распределения эритроцитов по объему	Вариабельность объема эритроцитов	RDW (red cell distribution width)
Количество тромбоцитов	Концентрацию тромбоцитов в крови	PLT
Средний объем тромбоцитов	Размеры тромбоцитов (макро- или микротромбоцитопения)	MPV (mean platelet volume)
Тромбоцитарная масса или тромбокрит	Процент количества тромбоцитов от массы цельной крови	PCT (platelet crit)
Распределение тромбоцитов по размерам	Коэффициент вариации кривой распределения тромбоцитов	PDW (platelet distribution width)
Количество лейкоцитов	Концентрацию лейкоцитов в крови	WBC (white blood cell)
Процентное содержание гранулоцитов	Процентное содержание гранулоцитов	GRA, %
Абсолютное число гранулоцитов	Абсолютное число гранулоцитов	GRA #
Процентное содержание лимфоцитов	Процентное содержание лимфоцитов	LYM, %
Абсолютное число лимфоцитов	Абсолютное число лимфоцитов	LYM #
Процентное содержание моноцитов	Процентное содержание моноцитов	MONO, %
Абсолютное число моноцитов	Абсолютное число моноцитов	MONO #

1.2.1.1. Структура и функции эритроцитов

Эритроциты — самые многочисленные обитатели крови. Эритроцит — это маленькая клетка в форме двояковогнутого диска (с утолщением по окружности и втягиванием в середине). Диаметр его равен 7,5–8,5 микрометра (мкм), средняя толщина колеблется от 1,85 до 2,1 мкм. Эритроциты большего, чем в норме, диаметра принято называть «макроциты», а меньшего — «микроциты». Зрелый эритроцит — это единственная безъядерная клетка. За 120 сут своей жизни эритроцит пробегает по сосудам путь длиной почти 150 км. Ему приходится двигаться не только по широким магистралям крупных артерий и вен, но и «протискиваться» в капилляры. Диаметр эритроцита в 2 раза больше диаметра капилляра (4 мкм), через который он должен пройти. Мембрана эритроцита способна деформироваться, изменяя форму так, что он может «протиснуться» через капилляры в тканях.

Каждый отдельный эритроцит имеет желто-красную окраску, но когда они собираются миллионами, то преобладающим становится красный цвет. Такую окраску эритроцитам придает вещество, которое содержится внутри клеток. Им является кровяной пигмент — гемоглобин.

Образование гемоглобина в эритроцитах начинается со стадий раннего созревания в костном мозге и заканчивается после поступления эритроцитов в кровяной ток. Каждый зрелый эритроцит содержит около 640 млн молекул гемоглобина. Для гемоглобина характерна способность связываться с кислородом воздуха. При этом гемоглобин крови поглощает примерно в 60 раз большее количество кислорода, чем то, которое может быть физически растворено в плазме крови человека.

Уникальная структура зрелого эритроцита хорошо подходит для выполнения его основной функции — переноса кислорода от легких к тканям органов и переноса углекислого газа от тканей к легким. Если «распластать» все имеющиеся в сосудистом русле эритроциты, разместив их рядом друг с другом, то образуемая ими площадь окажется в 1500–2000 раз больше поверхности тела взрослого человека. Это позволяет гемоглобину эритроцитов очень быстро насыщаться кислородом в капиллярах легких и отдавать его тканям.

1.2.1.2. Структура и функции гемоглобина

Гемоглобин — это пигмент эритроцитов, главная функция которого состоит в переносе кислорода от легких к тканям, а также в выведении углекислого газа из организма и регуляции кислотно-основного состояния (КОС). Молекула

гемоглобина состоит из 2 частей — глобина и гема. Глобин — это белок, построенный из 4 сложенных цепей аминокислот (субъединиц). Гем — железосодержащее органическое соединение небелковой природы. Каждая из 4 субъединиц глобина имеет присоединенную группу гема, а в центре каждой группы гема имеется атом железа в форме Fe^{2+} . Таким образом, в каждой молекуле гемоглобина содержится 4 группы гема.

Группы гема в молекуле гемоглобина всегда одинаковы, а вот точная последовательность аминокислот в субъединицах глобина слегка варьирует. Поэтому имеется 4 разновидности глобиновых цепей: альфа (α), бета (β), гамма (γ) и дельта (δ). Разновидности глобиновых цепей определяют и существование в крови человека различных форм гемоглобина.

В крови взрослого человека имеется несколько типов гемоглобина:

- гемоглобин A1 (HbA1) — гемоглобин взрослых; состоит из двух α - и двух β -глобиновых субъединиц, на его долю приходится 96–98% всего гемоглобина;
- гемоглобин A2, состоит из двух α - и двух δ -глобиновых цепей, на его долю приходится 2–4% всего гемоглобина.

У новорожденных преобладает фетальный гемоглобин (HbF), который состоит из двух α - и двух γ -глобиновых субъединиц. В первые дни жизни младенца HbF составляет 60–80% всего гемоглобина, к 4–5 мес жизни количество фетального гемоглобина снижается до 10%.

Понимание строения гемоглобина имеет важное практическое значение. Существует большая группа наследуемых нарушений синтеза и структуры гемоглобина, которые объединены одним общим названием — гемоглобинопатии. Имея представление о строении гемоглобина, легко понять сущность гемоглобинопатий. Большинство из них встречаются очень редко, но две формы — талассемия и серповидно-клеточная анемия не так редки в клинической практике и заслуживают пристального внимания (см. ниже).

Свойство гемоглобина связывать кислород определяется наличием в центре каждого из 4 гемов 1 атома железа. Молекулы кислорода как раз и связываются с атомами железа. Насыщенный кислородом гемоглобин называется оксигемоглобином. Поскольку в гемоглобине присутствуют 4 атома железа, то степень насыщения гемоглобина кислородом определяется количеством атомов железа, присоединивших кислород.

В легких кислород вдыхаемого воздуха (его содержание гораздо выше, чем в крови) прохо-