



# СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений и условных обозначений . . . . .	4
<b>Раздел I. Проведение общего клинического анализа крови . . . . .</b>	<b>5</b>
<b>Тема 1.1.</b> Состав и функции крови . . . . .	7
<b>Тема 1.2.</b> Организация рабочего места для проведения общего клинического анализа крови . . . . .	41
<b>Тема 1.3.</b> Определение концентрации гемоглобина . . . . .	53
<b>Тема 1.4.</b> Подсчет числа эритроцитов и лейкоцитов. Вычисление цветового показателя . . . . .	62
<b>Тема 1.5.</b> Определение скорости оседания эритроцитов . . . . .	77
<b>Тема 1.6.</b> Проведение общего клинического анализа крови (кроме подсчета лейкоцитарной формулы) . . . . .	85
<b>Тема 1.7.</b> Подсчет лейкоцитарной формулы (дифференциальный счет лейкоцитов) . . . . .	89
<b>Тема 1.8.</b> Определение морфологических особенностей эритроцитов . . . . .	110
<b>Раздел II. Проведение дополнительных исследований крови . . . . .</b>	<b>155</b>
<b>Тема 2.1.</b> Подсчет числа ретикулоцитов . . . . .	157
<b>Тема 2.2.</b> Определение резистентности эритроцитов . . . . .	163
<b>Тема 2.3.</b> Самостоятельное проведение исследований . . . . .	168
<b>Тема 2.4.</b> Подсчет числа тромбоцитов . . . . .	172
<b>Тема 2.5.</b> Определение времени кровотечения и скорости свертывания крови . . . . .	178
<b>Тема 2.6.</b> Определение групп крови и резус-фактора . . . . .	181
<b>Тема 2.7.</b> Диагностика малярии. . . . .	197
<b>Раздел III. Исследование крови на гематологических анализаторах . . . . .</b>	<b>213</b>
<b>Тема 3.1.</b> Исследование крови на гематологических анализаторах. . . . .	215
<b>Раздел IV. Проведение контроля качества при выполнении гематологических исследований . . . . .</b>	<b>231</b>
<b>Тема 4.1.</b> Проведение контроля качества . . . . .	233
<b>Раздел V. Злокачественные новообразования кровенворной системы (дополнение). . . . .</b>	<b>245</b>
Тестовые задания . . . . .	276
Список рекомендованной литературы. . . . .	284

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ♣ — торговое наименование лекарственного средства и/или фармацевтическая субстанция
- ♠ — лекарственное средство не зарегистрировано в Российской Федерации
- ⊗ — лекарственное средство аннулировано в Российской Федерации
- АХЗ — анемия хронических заболеваний
- ВКЛ — волосатоклеточный лейкоз
- ВФ — внутренний фактор
- Г-6-ФД — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
- ЖДА — железодефицитная анемия
- КОЕ — колониеобразующая единица
- МДС — миелодиспластический синдром
- ПСК — полипотентная стволовая клетка
- рТФР — рецептор трансферрина
- СОЭ — скорость оседания эритроцитов
- ХЛЛ — хронический лимфолейкоз
- ХМЛ — хронический миелоидный лейкоз
- ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота
- ЭПО — эритропоэтин
- ЭТ — эссенциальная тромбоцитемия
- Нб — гемоглобин (hemoglobin)
- Нт — гематокрит (hematocrit)
- МСН — среднее содержание гемоглобина в эритроците (mean cell hemoglobin)
- MCV — средний объем эритроцита (mean corpuscular volume)
- RDW — кривая распределения эритроцитов по объему (red deviation width)

● Раздел I

A decorative horizontal line consisting of 20 small, light gray dots, starting from the left margin and extending across the page.

**●** ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО  
КЛИНИЧЕСКОГО  
АНАЛИЗА КРОВИ



# ТЕМА 1.1

## СОСТАВ И ФУНКЦИИ КРОВИ

### 1.1.1. СОСТАВ КРОВИ

Кровь у высших животных и человека состоит из жидкой части (плазмы) и взвешенных в ней клеток (форменных элементов): эритроцитов (красные кровяные тельца), лейкоцитов (белые кровяные тельца) и тромбоцитов (красные кровяные пластинки). Между плазмой и форменными элементами крови существуют определенные объемные соотношения. Установлено, что на долю форменных элементов крови приходится 40–45%, а на долю плазмы — 55–60%.

Кровь, лимфа и тканевая жидкость омывают все клетки и ткани тела. Внутренняя среда отличается относительным постоянством состава и физико-химических свойств, что создает приблизительно одинаковые условия существования клеток организма (гомеостаз). Кровь — это особая жидкая ткань организма, она представляет собой коллоидно-полимерный раствор, состоящий из воды и растворенных в ней веществ — солей и низкомолекулярных органических соединений — белков и их комплексов. При стоянии кровь разделяется на две части, включающие плазму и взвешенные в ней форменные элементы.

Плазма крови содержит 90–92% воды и 8–10% сухого вещества, главным образом белков и солей. В плазме находится ряд белков, различающихся по свойствам и функциональному значению: альбумины (около 4,5%), глобулины (2–3%) и фибриноген (0,2–0,4%). Общее количество белка в плазме крови человека составляет 7–8%. Остальная часть плотного остатка плазмы приходится на долю других органических соединений и минеральных солей.

В крови находятся также продукты распада белков и нуклеиновых кислот (мочевина, креатин, креатинин, мочевая кислота), подлежащие выведению из организма. Половина общего количества небелкового азота в плазме (так называемого остаточного азота) приходится на долю

мочевины. При недостаточности функции почек содержание остаточного азота в плазме крови увеличивается.

Содержание органических и неорганических веществ плазмы крови за счет деятельности различных регулирующих систем организма поддерживается на относительно постоянном уровне.

Кровь обладает рядом физико-химических свойств, на которых следует остановиться подробнее.

- *Плотность крови* колеблется в узких пределах и зависит от содержания в ней форменных элементов, белков и липидов. У человека плотность цельной крови составляет 1,060–1,064.
- *Вязкость крови* — еще один физический показатель. Она в 3–6 раз больше вязкости воды и находится в прямой зависимости от содержания в крови эритроцитов и белков. Если вязкость воды принять за 1, то вязкость плазмы крови составит 1,7–2,2, а вязкость цельной крови — около 5. Вязкость крови обусловлена наличием белков и особенно эритроцитов, которые при своем движении преодолевают силы внешнего и внутреннего трения. Вязкость увеличивается при сгущении крови, то есть потере воды (например, при поносе, обильном потении), а также при возрастании количества эритроцитов в крови.
- *Осмотическое давление крови*. Концентрация солей в крови у млекопитающих составляет около 0,9%. От их содержания в крови и зависит осмотическое давление, которое определяет распределение воды между тканями и клетками организма. Осмотическое давление крови млекопитающих находится на постоянном уровне.
- *Реакция крови*. Для оценки активной реакции крови применяют водородный показатель, или рН. Активная реакция имеет большое биологическое значение, потому что большинство обменных процессов нормально протекают только при определенных показателях рН. Кровь млекопитающих и человека имеет слабощелочную реакцию: рН артериальной крови — 7,35–7,45, венозной — на 0,02 единицы ниже.

Основными количественными характеристиками крови являются число эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, концентрация гемоглобина (hemoglobin — Hb), скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Число форменных элементов по международной системе единиц выражают в расчете на 1 л.

Самый простой и информативный вид исследования крови — клинический анализ крови из пальца или из вены, который производится натошак.

## 1.1.2. ФУНКЦИИ КРОВИ

В организме человека кровь выполняет целый ряд важнейших функций.

1. *Транспортная функция.* Кровь, циркулируя по сосудам, транспортирует множество соединений, среди них газы, питательные вещества и др.
2. *Дыхательная функция.* Эта функция заключается в связывании и переносе кислорода и углекислого газа.
3. *Трофическая (питательная) функция.* Кровь обеспечивает все клетки организма питательными веществами: глюкозой, аминокислотами, жирами, витаминами, минеральными веществами, водой.
4. *Экскреторная функция.* Кровь уносит из тканей конечные продукты метаболизма: мочевину, мочевую кислоту и другие вещества, удаляемые из организма органами выделения.
5. *Терморегуляторная функция.* Кровь охлаждает внутренние органы и переносит тепло к органам теплоотдачи.
6. *Поддержание постоянства внутренней среды (гомеостаз).* Кровь поддерживает стабильность ряда констант внутренней среды организма: осмотического давления, водно-солевого баланса, кислотно-основного состояния. Кровь обеспечивает водно-солевой обмен между кровью и тканями. В артериальной части капилляра жидкость и соли поступают в ткани, а в венозной его части возвращаются в кровь. Осмотическое давление крови весьма важно для всех без исключения клеток организма, но особенно для эритроцитов: они быстро набухают и гемолизируются в гипотонической среде и сморщиваются в среде гипертонической.
7. *Защита организма (иммунная функция).* Кровь выполняет защитную функцию, являясь важнейшим фактором иммунитета, или защиты организма от живых тел и генетически чуждых веществ, от проникновения различной природы ксеноагентов, в первую очередь инфекционных. Это достигается посредством гуморального (антитела) и клеточного (фагоцитоз) иммунитета.

## 1.1.3. ТЕОРИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ

Кроветворение представляет собой процесс образования лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов. В крови взрослого человека в каждый момент времени циркулирует приблизительно  $25 \times 10^{12}$  эритроцитов, около  $30 \times 10^9$  лейкоцитов и около  $15 \times 10^{11}$  тромбоцитов. Клеточные элементы составляют около 40% объема крови, а 60% приходится

на жидкую часть — плазму. В нормальных условиях эритроцит живет 100–120 дней. Продолжительность циркуляции нейтрофилов, выражаемая временем полувыведения радиоактивной метки ( $T_{1/2}$ ), — около 4–6 ч, затем нейтрофил мигрирует в ткани, где его жизнь также исчисляется часами.  $T_{1/2}$  моноцита — около 72 ч, затем он переходит в ткани, где превращается в блуждающий или фиксированный макрофаг, сохраняющий способность к делению (в отличие от зрелых гранулоцитов, не способных к делению); срок его жизни в тканях не совсем ясен. Эозинофилы находятся в крови около 5 ч, они также мигрируют в ткани. Срок пребывания в крови базофилов не установлен. Тромбоциты находятся в кровяном русле около 8–9 дней. Лимфоциты представляют собой весьма неоднородную группу клеток: среди Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов одни клетки живут часы, другие — годы.

Зрелость клеточных элементов крови может быть различной, так как в зависимости от потребности из кроветворных органов могут выходить и вполне зрелые и еще созревающие клетки, но уже выполняющие свою основную задачу: фагоцитирующие инородные частицы, транспортирующие кислород, образующие первичный тромб. Более того, в крови могут находиться и совсем незрелые клеточные элементы, даже стволовые кроветворные клетки и их ранние потомки, способные самостоятельно поддерживать кроветворение после их трансплантации реципиенту с уничтоженной кроветворной системой.

Преобладающее большинство клеток крови являются зрелыми и не способными к дальнейшей пролиферации, обладают коротким жизненным циклом. Именно поэтому в течение всей жизни происходит новообразование клеток крови. Процесс кроветворения исключительно интенсивен, и в ходе его производится поистине астрономическое число клеток — более 300 млн в минуту. Годовая продукция кроветворной системы человека составляет такое число клеток, которые суммарно весят примерно столько же, как и человек, а за всю жизнь образуется около 5 тонн клеток крови. Такая производительность уже сама по себе составляет огромную проблему для понимания механизмов поддержания кроветворения.

Образование клеток в костном мозге впервые было показано (независимо друг от друга) Нейманом (E. Newmann) и Биццоццо (G. Bizzozzero) в 1868 г. Первая попытка обобщения имеющихся материалов в виде теории кроветворения предпринята в 1880 г. Эрлихом (P. Erlich). Разработанные им методы дифференциальной окраски клеток способствовали быстрому накоплению знаний о морфологии клеток крови. В 1898 г. Паппенгейм (A. Pappenheim) использовал улучшенные Д.Л. Романовским методы окраски, что позволило ему описать переходные формы клеток костного мозга. Эти морфологические описания остаются классическими и поныне.

На основе клинических различий между лимфоидными и миелоидными лейкозами Негели (O. Naegeli) обосновал дуалистическую теорию кроветворения. Он заключил, что существуют две независимые родоначальные кроветворные клетки, из которых начинаются и происходят лимфоцитопоз и миелоцитопоз.

В настоящее время принята унитарная теория кроветворения. Основателем современной унитарной теории кроветворения является отечественный гистолог А.А. Максимов (работал на кафедре гистологии ВМА в Санкт-Петербурге). Еще в 1907 г. Максимов утверждал, что все клетки крови развиваются из единой, одной и той же родоначальной клетки. Только развитие современных методов исследования (радиационная гематология, цитогенетика, молекулярная биология, культура тканей) позволило прямым образом доказать правоту А.А. Максимова.

В результате удалось четко охарактеризовать последовательность дифференцировок в кроветворной системе, начиная с единой кроветворной полипотентной стволовой клетки (ПСК).

У взрослого человека кроветворными органами являются костный мозг, селезенка, тимус, лимфатические узлы и пейеровы бляшки. Костномозговое кроветворение происходит в плоских костях скелета — это грудина, ребра, позвонки, тазовые кости. В селезенке у человека происходят лимфоцитопоз, депонирование и разрушение клеток крови. Правда, при напряженном кроветворении, например на фоне хронических кровопотерь, селезенка иногда становится органом кроветворения, в ней появляются эритрокарициты, мегакарициты, миелоидные клетки.

- *Центральные органы кроветворения* включают в себя красный костный мозг и тимус. Красный костный локализован в губчатом веществе плоских и губчатых костей, а также эпифизов трубчатых костей. Консистенция — полужидкая, поэтому из красного костного мозга готовят как срезы, так и мазки. В красном костном мозге происходят все стадии созревания эритроцитов, гранулоцитов, моноцитов, тромбоцитов и В-лимфоцитов. Кроме того, здесь же образуются предшественники Т-лимфоцитов, которые далее мигрируют в тимус. Тимус (вилочковая, или зубная, железа) расположена за грудиной. Функция: в тимусе завершается созревание Т-лимфоцитов и происходит их пролиферация.
- *Периферические органы кроветворения* составляют так называемую периферическую лимфоидную систему, которая включает лимфоидную систему слизистых оболочек, многочисленные лимфатические узлы, располагающиеся по ходу лимфатических сосудов, и селезенку. Очень многочисленны компоненты лимфоидной

системы слизистых оболочек: глоточное лимфоидное кольцо (или кольцо Пирогова); в стенке тонкой кишки одиночные (солитарные) лимфатические фолликулы, а также их скопления (пейеровы бляшки); в стенке червеобразного отростка — лимфатические узелки; в стенке воздухоносных путей — лимфатические узелки (бронхоассоциированная лимфоидная ткань).

Выделяют два типа кроветворения — миело- и лимфопоэз.

— *Миелопоэз* — образование всех форменных элементов крови, кроме лимфоцитов, то есть эритроцитов, гранулоцитов, моноцитов и тромбоцитов.

— *Лимфопоэз* — образование лимфоцитов (Т- и В-клеток).

В соответствии с двумя типами кроветворения выделяют два типа кроветворной ткани — миелоидная и лимфоидная. Миелоидная — ткань, в которой происходит миелопоэз, — представлена красным костным мозгом. В миелоидной ткани, кроме миелопоэза, совершаются важные события лимфопоэза: созревание В-лимфоцитов и начальные стадии созревания Т-лимфоцитов. Ткань, в которой происходит дозревание и функционирование лимфоцитов, называется лимфоидной. И в миелоидной ткани костного мозга, и в лимфоидной ткани соответствующих органов содержатся два основных компонента: стромальный компонент и гемопоэтические (кроветворные) клетки на разных стадиях созревания. Гемопоэтические клетки находятся в тесной связи с элементами стромального компонента, образующими микроокружение. Кроветворные клетки и клетки стромального компонента имеют мезенхимное происхождение. Исключение составляет тимус, в котором строма долек представлена эпителиальной тканью.

Кроветворные клетки в основном находятся в красном костном мозге. При этом они способны попадать в кровь и после циркуляции — вновь выселяться в кроветворные органы (репопуляция).

Внутри костного мозга кроветворение происходит в островках (рис. 1).

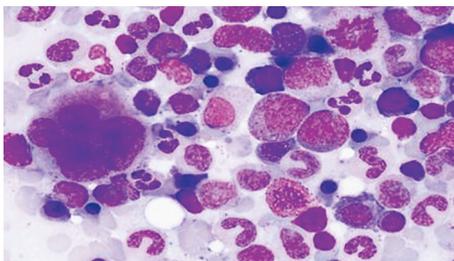


Рис. 1. Островок костномозгового кроветворения

Кроветворная ткань заключена в костный чехол, который выполняет не только защитную, но и регулирующую гемопоэз функцию. Костный мозг является высокоvascularизированным органом, который сообщается с кровотоком посредством капиллярной сети.

Различают два типа капилляров: питающие (обычные) и функциональные (синусоиды), которые впадают в общий ствол — центральную вену. Синусоиды располагаются радиально, между ними находится гемопоэтическая ткань. Стенка синусоида состоит из трех последовательных слоев: базальная мембрана, клетки эндотелия и адвентиции. Эпителий синусоидов образует поры, через которые лейкоциты покидают костный мозг.

По мере созревания кроветворные клетки перемещаются к стенке синусоидов и поступают в кровь, то есть делящиеся и незрелые клетки расположены в центре островка костного мозга, а созревающие клетки — на периферии (около стенок синусоидов). Кроветворение в костном мозге происходит островками, в которых группируются клетки по росткам гемопоэза. Развитие эритроцитов происходит в эритробластных островках, состоящих из центрально расположенного макрофага и окружающих его эритробластов на разных стадиях созревания. Такие островки концентрируются непосредственно напротив синуса, а к его стенке ближе всего прилегают ретикулоциты. Макрофаги обеспечивают молодым эритроидным клеткам передачу железа и цитокинов, необходимых для нормальной дифференцировки и созревания эритрокариоцитов. Мегакариоциты — клетки очень большого размера и в норме в сосудистое русло не попадают. Они производят отверстия в цитоплазме эндотелиальных клеток и выделяют через эти проходы тромбоциты в полость синуса.

Гранулоциты локализуются преимущественно в отдалении от синусоида и лишь на стадии метамиелоцитов приближаются к их стенке. С помощью цитоплазматических микроворсинок они зондируют поверхность барьерных клеток и выявляют трансмуральные проходы в их цитоплазме. Важную роль при этом играют молекулы межклеточной адгезии (*intercellular adhesion molecule*), благодаря которым осуществляется взаимосвязь клеток. Для выполнения этих функций нейтрофилы нуждаются также в комплексе гуморальных стимуляторов: глюкокортикоидов, андрогенов, эндотоксинов и компонентов комплемента.

В регуляции пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток большую роль играет стромальное микроокружение. Клетки стромы и соединительнотканые волокна образуют сеть, в которой располагаются собственно кроветворные элементы, составляющие паренхиму костного мозга. Помимо опорной функции, стромальные

элементы ответственны за пролиферацию и дифференцировку клеток костного мозга.

В процессе поэтапной дифференцировки стволовых клеток в зрелые форменные элементы крови в каждом ряду кроветворения образуются промежуточные типы клеток, которые в схеме кроветворения составляют классы клеток (рис. 2).

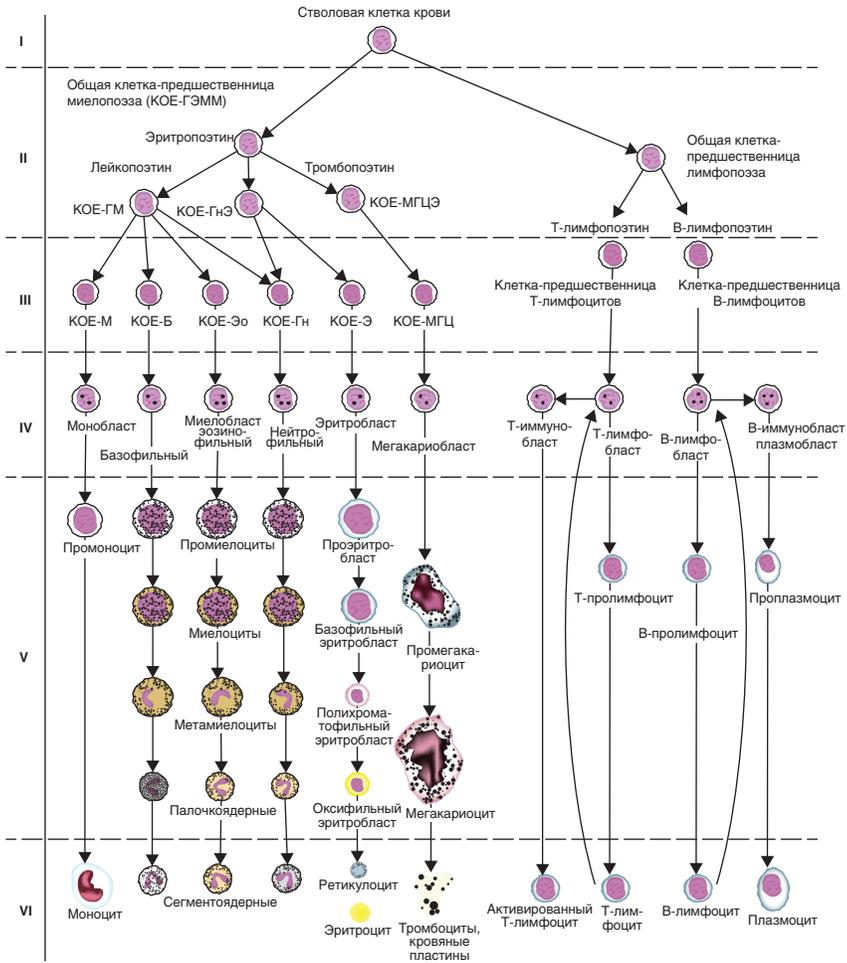


Рис. 2. Схема кроветворения

Всего в схеме кроветворения различают шесть классов клеток:

- I класс — стволовые клетки;
- II класс — полустволовые клетки;
- III класс — унипотентные клетки;
- IV класс — бластные клетки;
- V класс — созревающие клетки;
- VI класс — зрелые форменные элементы.

*Класс I: стволовые клетки крови.* ПСК способна к поддержанию популяции всех кроветворных элементов. По морфологии стволовая клетка соответствует малому лимфоциту, является полипотентной, то есть способной дифференцироваться в любой форменный элемент крови. ПСК закладываются в период эмбриогенеза и расходуются последовательно, образуя сменяющие друг друга клоны более зрелых кроветворных клеток. ПСК делятся редко; в основном они находятся в периоде покоя ( $G_0$ -период) клеточного цикла, поэтому их доля (от общего числа гемопоэтических клеток) в кроветворных органах очень низкая. Стволовая клетка относится к категории редких (1:100 000 клеток). ПСК способны к циркуляции в периферической крови и могут быть использованы для аутологичной гемотрансплантации. На поверхности ПСК находятся специальные антигены (рецепторы CD34), по которым и определяют ПСК в периферической крови. Начало активного функционирования стволовой клетки, связанное с выходом из фазы  $G_0$ -клеточного цикла (покоя), как и выбор ею направления дифференцировки, видимо, специально не регулируется и представляет собой стохастические (случайные) и, следовательно, исключительно надежные процессы. В эволюции подобные стохастические процессы всегда используются при особо важных для судьбы решениях: выбор пола, мобилизация в клеточный цикл яйцеклеток и др. ПСК не чувствительны к запросу, и даже сильнейшие гемопоэтические стрессы (такие как кровопотеря, облучение, химиотерапия) не способны увеличить долю клеток, находящихся в клеточном цикле.

*Класс II: полустволовые клетки* — ограниченно полипотентные (или частично коммитированные) клетки. На первом этапе дифференцировки ПСК образуются полустволовые клетки двух видов: предшественники миелопоэза и предшественники лимфопоэза. После нескольких циклов деления (1–5) ПСК может вновь вернуться в состояние покоя. При этом такие вернувшиеся в резервный пул ПСК не равноценны исходным, их состояние покоя менее глубоко, и при наличии запроса они отвечают быстрее. Полустволовые клетки имеют морфологию малого лимфоцита и отличаются только по поверхностным антигенам.

Клетки I и II классов обладают способностью:

- 1) *к самоподдержанию* — при их делениях часть дочерних клеток полностью идентична материнским (то есть пополняет пул клеток того класса, к которому принадлежали родительские клетки); другая часть клеток подвергается дифференцировке (превращается в клетки последующих классов);
- 2) *к образованию колоний* — благодаря предыдущим свойствам (самоподдержанию и дифференцировке) они способны образовывать колонии: крупные колонии — так называемые бурстобразующие единицы и колониеобразующие единицы (КОЕ).

Клетки класса II имеют три принципиальные особенности:

- 1) *коммитированность* — то есть возможность дальнейших превращений для каждой из них уже ограничена;
- 2) *олигопотентность* — от последующих клеток они отличаются тем, что еще сохраняют возможность дифференцироваться не по одному, а по двум различным направлениям или более;
- 3) *чувствительность к регуляторам* — данные клетки приобретают чувствительность к регуляторам гемопоэза, которые и определяют направление дифференцировки.

Эритроидная дифференцировка клеток костного мозга начинается со стадии предшественников, которые образуют при культивировании огромные колонии — так называемые бурстобразующие единицы эритропоэза. Более зрелые предшественники эритроидного ряда обозначены как КОЕ эритропоэза, поскольку образуют в культуре ткани менее крупные клеточные образования — колонии.

Индукция дифференцировки всех без исключения предшественников осуществляется ростовыми факторами, специфическими для каждой линии. Они получили название колониестимулирующих факторов и интерлейкинов. Большинство из них продуцируются стромальными и гемопоэтическими клетками. Ростовые факторы воздействуют на клетки-предшественники через специальные мембранные рецепторы, вызывая их активацию и пролиферацию. Среди ростовых факторов выделяются рано действующие факторы, влияющие на родоначальные клетки, и поздно действующие, реагирующие с более дифференцированными формами.

*Общим предшественником миелопоэза* является полипотентная КОЕ гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов, мегакариоцитов. Свое название она получила в связи со способностью образовывать в костномозговой культуре смешанные колонии, состоящие из всех типов миелоидных клеток. КОЕ гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов, мегакариоцитов способны дифференцироваться

по четырем направлениям — во все три вида гранулоцитов — нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, а также в моноциты, мегакариоциты. На КОЕ гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов, мегакариоцитов экспрессируются макромолекулы, специфичные для миелоидных клеток, определяемые моноклональными антителами как CD33. На следующем этапе дифференцировки из КОЕ гранулоцитов, эритроцитов, моноцитов/макрофагов, мегакариоцитов образуются би- или унипотентные клетки.

*Класс III: унипотентные клетки* — поэтинчувствительные клетки — предшественницы своего ряда кроветворения. Морфология их также соответствует малому лимфоциту. Они способны дифференцироваться только в один тип форменного элемента. Делятся часто, но одни из образующихся клеток вступают на путь дифференцировки, а другие сохраняют численность популяции данного класса. Частота деления этих клеток и способность дифференцироваться дальше зависит от содержания в крови особых биологически активных веществ — поэтинов, специфичных для каждого ряда кроветворения [эритропоэтины (ЭПО), тромбопоэтины и др.]. В отличие от предыдущих клеток, каждая клетка этого класса может развиваться только по одному направлению. Поэтому естественно, что (по числу разных видов форменных элементов крови) имеется 8 видов унипотентных клеток-предшественников:

- 1) предшественники моноцитов;
- 2) предшественники базофильных гранулоцитов;
- 3) предшественники эозинофильных гранулоцитов;
- 4) предшественники нейтрофильных гранулоцитов;
- 5) предшественники эритроцитов;
- 6) предшественники мегакариоцитов;
- 7) предшественники В-лимфоцитов;
- 8) предшественники Т-лимфоцитов.

В обычных условиях начальные стадии гемопоэза протекают с небольшой интенсивностью, и содержание клеток классов I–III (а также класса IV) в костном мозге очень низкое. Преобладают же (и значительно) клетки последующих стадий развития — обычно той последней стадии, на которой клетки еще способны делиться.

*Первые три класса клеток объединяются в класс морфологически неидентифицируемых клеток*, так как все они имеют морфологию малого лимфоцита, но потенции их к развитию различны.

*Класс IV: бластные клетки.* Деление и созревание восьми видов клеток класса III приводят к образованию бластов — клеток класса IV, морфология которых отличается от морфологии клеток классов I–III (похожих на малые лимфоциты). Бласты отличаются большим размером,

более светлым ядром и светлой цитоплазмой, появлением в цитоплазме первых продуктов специфических синтезов. Несмотря на последнее обстоятельство, между собой (то есть «по горизонтали») бластные клетки морфологически практически неразличимы. В отличие от предыдущих клеток, бласты не способны к самоподдержанию. Это означает, что при их делениях образуются только более дифференцированные клетки (более зрелые), а клетки, подобные родительским, не воспроизводятся.

*Класс V: созревающие клетки.* В клетках появляются специфические для каждой из них структуры, и постепенно клетки теряют способность к делению. Это — молодые клетки, или бласты (эритробласты, лимфобласты и т.д.). По морфологии они отличаются как от трех предшествующих, так и от последующих классов клеток. Эти клетки крупные, с большим рыхлым ядром с двумя-четырьмя ядрышками, цитоплазма базофильна за счет большого числа свободных рибосом. Часто делятся, но все дочерние клетки вступают на путь дальнейшей дифференцировки (созревания). По цитохимическим свойствам можно идентифицировать бласты разных рядов кроветворения.

По мере дифференцировки пути развития клеток миелоидной и лимфоидной линий расходятся: для каждого направления дифференцировки существует свой общий миело- или лимфопредшественник. Клетки миелоидной линии пролиферируют и дифференцируются в костном мозге до зрелых форм. Клетки лимфоидной линии разделяются на В- и Т-направления. Ранние В-предшественники проходят ряд этапов развития в костном мозге, центральном органе В-лимфопоэза, затем попадают в кровь и переносятся в лимфатические узлы, селезенку и др. (периферические органы иммунной системы). Т-лимфоидные предшественники мигрируют в тимус, где проходят антигеннезависимые стадии дифференцировки, а затем — в тимусзависимые зоны периферических органов иммунной системы.

*Класс VI: зрелые форменные элементы.* К этому классу относятся зрелые клетки, которые выходят в периферическую кровь: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, лимфоциты, моноциты.

## **1.1.4. ПРИНЦИП ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛЕТОК КРОВИ — ОКРАСКА ПО РОМАНОВСКОМУ**

Клинический анализ крови (гемограмма) широко используется в клинической практике как один из самых важных методов обследования при большинстве заболеваний; в диагностике заболеваний системы кроветворения ему отводится ведущая роль. Отклонения

от нормы показателей крови чаще всего неспецифичны, но в то же время отражают все изменения, которые происходят в организме, а в некоторых случаях первыми информируют о развитии заболевания.

В настоящее время наиболее совершенным считается метод окраски клеток крови *по Романовскому* в различных модификациях.

Развитие этого метода началось с открытия С.П. Романовского (1891 г.), состоявшего в том, что в смеси метиленового синего с эозином цитоплазма клеток окрашивается в синие оттенки, а ядра — в красные. Оказалось, что при стоянии смеси этих красителей образуется особое вещество, обладающее указанными свойствами, которое называется «азур».

*Принцип метода* основан на использовании свойства смеси основных (азур II) и кислых (растворимый желтый эозин) красок окрашивать различные элементы клеток в разные цвета и оттенки. Азур-эозиновые смеси обладают высокой чувствительностью к реакции воды, и поэтому применяемая для приготовления красителей и для их смывания дистиллированная вода должна быть нейтральной реакции, то есть иметь рН 7,0. При кислой реакции воды (рН <7,0) клетки долго не прокрашиваются и имеют красный оттенок. При щелочной реакции, когда рН >7,0, эритроциты окрашиваются в серовато-синий, а ядра и цитоплазма клетки — в очень темные тона.

*Окраска азур-эозиновыми смесями.* Для окраски мазка азур-эозиновой смесью можно пользоваться имеющимся в продаже красителем Романовского—Гимзы (две капли на 1 мл дистиллированной воды); продолжительность окрашивания — 20–30 мин.

Можно приготовить аналогичный краситель в лаборатории. Для этого растворяют отдельно 1 г азура II в 1 л свежeproкипяченной дистиллированной воды и 1 г эозина в таком же количестве воды. Красители хранят раздельно.

Эти растворы практически неограниченно стойки. Для окрашивания отмеряют в безукоризненно чистом цилиндре требуемое количество дистиллированной воды из расчета 2,5–3,0 мл на каждый мазок, прибавляют в нее четыре капли эозина, смешивают, прибавляют столько же капель азура, опять смешивают. Это рабочий раствор. Его готовят перед самым употреблением (хранить раствор нельзя).

Продолжительность окраски — 25–30 мин. Первые же окрашенные мазки покажут, правильно ли был составлен краситель: если ядра лейкоцитов окрашиваются бледно, следует брать не четыре, а больше капель азура; если эритроциты и зернистость эозинофилов

имеет синеватый оттенок, берут больше эозина. Проверяют также продолжительность окраски мазков, для чего используют два способа.

1. Окраска мазков крови на «рельсах». Предметное стекло с нанесенным на него мазком крови после фиксации кладут на две стеклянные палочки («рельсы»), помещенные поперек лотка. Краситель наливают на стекло как можно более толстым слоем (высота слоя благоприятно влияет на окраску). Окрашивание продолжается обычно 20–30 мин. По окончании окраски краситель сливают, ополаскивают мазок водопроводной водой и сушат в вертикальном положении на воздухе. Для микроскопирования с иммерсией мазок должен быть совершенно сухим. Обсушивание фильтровальной бумагой нежелательно.
2. Окраска мазков крови в кювете (контейнере). Берут две кюветы. В одну наливают фиксатор (метилловый спирт, раствор Май-Грюнвальда), в другую — краситель по Романовскому. Мазки помещают в специальный держатель (кронштейн) спинками друг к другу. Опускают кронштейн в первый контейнер на 2–3 мин (фиксация мазков), затем — во второй контейнер с краской по Романовскому. Для получения хорошей окраски чрезвычайно важно иметь воду соответствующей реакции. В настоящее время имеются готовые наборы для приготовления буферной воды.

## 1.1.5. МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК ГРАНУЛОЦИТАРНОГО РЯДА

Лейкоциты, или белые кровяные тельца, играют важную роль в защите организма от микробов, вирусов, патогенных простейших, любых чужеродных веществ, то есть обеспечивают иммунитет. У взрослых кровь содержит  $4-9 \times 10^9/\text{л}$  (4000–9000 в 1 мкл) лейкоцитов, то есть их в 500–1000 раз меньше, чем эритроцитов. Увеличение их количества называют лейкоцитозом, уменьшение — лейкопенией. Лейкоциты делят на две группы: гранулоциты (зернистые) и агранулоциты (незернистые).

В группу гранулоцитов входят нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, а в группу агранулоцитов — лимфоциты и моноциты. В крови циркулирует не более 1% имеющихся в организме нейтрофилов. Основная их часть сосредоточена в тканях. Наряду с этим в костном мозге имеется резерв, превосходящий число циркулирующих нейтрофилов в 50 раз. Выброс их в кровь происходит по первому требованию организма.

Основная функция нейтрофилов — защита организма от проникших в него микробов и их токсинов. Нейтрофилы первыми прибывают на место повреждения тканей, то есть являются авангардом лейкоцитов. Их появление в очаге воспаления связано со способностью к активному передвижению. Они выпускают псевдоподии, проходят через стенку капилляров и активно перемещаются в тканях к месту проникновения микробов.

К гранулоцитам костного мозга относят миелобласт (IV класс), промиелоцит, миелоцит, метамиелоцит и палочкоядерный гранулоцит (V класс), сегментоядерный гранулоцит (VI класс) (рис. 3). *Миелобласты* — это родоначальные клетки гранулоцитарного ряда (рис. 4), чаще они круглой, реже — полигональной формы, размером

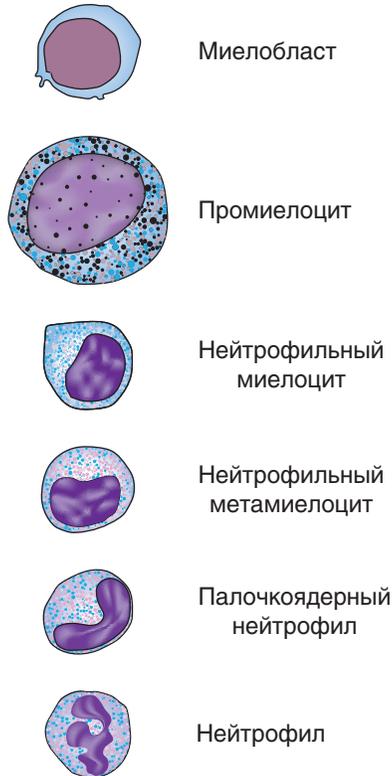


Рис. 3. Схема созреваия клеток нейтрофильного ряда